

Aus der Klinik und Poliklinik für Diagnostische und Interventionelle
Radiologie der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität
Mainz

Bedeutung der quantitativen Magnetresonanztomographie zur
Evaluation der Degeneration der paraspinalen Muskulatur sowie des
Musculus psoas bei Patienten mit Morbus Pompe

D i s s e r t a t i o n
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

Clemens Stihl
aus Freiburg im Breisgau

Mainz, 2020

Tag der Promotion:

6. Juli 2021

Für meine Eltern

Teile der vorliegenden Dissertation wurden veröffentlicht in:

PLoS One. 2018 Jan 9;13(1): e0190784:

Quantification of intramuscular fat in patients with late-onset Pompe disease by conventional magnetic resonance imaging for the long-term follow-up of enzyme replacement therapy (1).

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	3
Tabellenverzeichnis	5
Abbildungsverzeichnis	5
1. Einleitung	6
2. Ziel der Arbeit	8
3. Literaturdiskussion	9
3.1. Epidemiologie	9
3.2. Geschichte	11
3.3. Ätiologie und Pathogenese	16
3.3.1. Pathologie der Skelettmuskulatur	18
3.4. Genetik.....	21
3.5. Klinik	24
3.5.1. Klassisch infantiler Morbus Pompe	25
3.5.2. Late-onset Morbus Pompe	26
3.6. Diagnostik	29
3.7. Differentialdiagnose	32
3.8. Enzymersatztherapie	33
3.8.1. Experimentelle Therapieansätze.....	37
4. Literaturdiskussion Radiologie	38
4.1. Grundlagen der Magnetresonanztomographie	40
4.2. MRT Auswertungsmethoden	43
4.2.1. Semi-quantitative Evaluation (Mercuri Score).....	44
4.2.2. Quantitative Evaluation	45
4.3. Verteilungsmuster	48
4.3.1. Muskelfaserverteilung	49
5. Material und Methoden	52
5.1. Patienten.....	52
5.2. MRT-Untersuchungen.....	52
5.3. Semi-quantitative Auswertung (Mercuri Score)	53
5.4. Quantitative Auswertung.....	54
5.4.1. Manuelle Evaluation (FF _{man})	54
5.4.2. Semi-automatische Auswertung (FF _{aut})	55
5.5. Klinische Untersuchung	57
5.6. Follow-Up unter Enzymersatztherapie	57

5.7. Statistik	58
6. Ergebnisse	59
6.1. Semi-quantitative Evaluation (Mercuri Score).....	59
6.2. Quantitative manuelle Evaluation (FF _{man}).....	59
6.3. Quantitative semi-automatische Evaluation (FF _{aut}).....	61
6.4. Klinische Daten	63
6.5. Korrelationen.....	64
6.5.1. Klinische Daten und Mercuri Score	64
6.5.2. Klinische Daten und FF _{man}	65
6.5.3. Klinische Daten und FF _{aut}	68
6.5.4. Mercuri Score und FF _{man}	70
6.5.5. Mercuri Score und FF _{aut}	72
6.5.6. FF _{man} und FF _{aut}	74
6.6. Follow-Up unter Enzyersatztherapie	75
7. Diskussion	80
7.1. Magnetresonanztomographie	80
7.2. Auswertungsmethode	81
7.3. Untersuchungsparameter	83
7.3.1. Ebene.....	83
7.3.2. Wichtung	83
7.3.3. Feldinhomogenität.....	85
7.3.4. Muskelgruppen.....	87
7.4. Klinische Daten	88
7.5. Vergleich der Methoden.....	89
7.6. Enzyersatztherapie	90
8. Limitationen und zukünftige Forschung	94
9. Zusammenfassung	96
10. Literaturverzeichnis.....	99
11. Danksagung.....	117
12. Lebenslauf	118

Abkürzungsverzeichnis

BMI	Body Mass Index
CK	Serum-Creatinkinase
CRIM	Cross-reactive Immunologic Material
CSA	Cross Sectional Area
CT	Computertomographie
DLK	Degenerative Lendenwirbelsäulen Kyphose
DMD	Duchenne-Muskeldystrophie
ERT	Enzym Replacement Therapy
FCSA	Functional Cross-Sectional Area
FDA	Food and Drug Administration (Arzneimittelzulassungsbehörde der USA)
FF	Fettfraktion
FF _{aut}	automatisch bestimmte Fettfraktion
FF _{man}	manuell bestimmte Fettfraktion
FVC	Forcierte Vitalkapazität
GSD	Glycogen Storage Disease
ICC	Intra Class Correlation
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
LGMD	Gliedergürteldystrophie
LOPD	Late-Onset Pompe Disease
MEP	Maximaler expiratorischer Druck
MF	Multifidus
MRC	Medical Research Council
MRT	Magnetresonanztomographie
MTP	Mitochondriales trifunktionales Protein
PACS	Picture Archiving and Communication System
PS	Musculus psoas
QL	Musculus quadratus lumborum
rhGAA	Rekombinante humane α -Glukosidase
ROI	Region of Interest
SE	Spin-Echo
SEM	Standardmessfehler

SI	Signalintensität
T1	T1 Wichtung
T2	T2 Wichtung
TSE	Turbo-Spin-Echo-Sequenz
STIR	Short Tau Inversion Recovery
FLAIR	Fluid Attenuated Inversion Recovery
TIRM	Turbo-Inversion Recovery-Magnitude

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 – Übersicht Mercuri Scores	54
Tabelle 2 – Ergebnisse Mercuri Score Bewertung bei initialer Untersuchung	59
Tabelle 3 – Ergebnisse der quantitativ manuellen Evaluation (FF_{man})	60
Tabelle 4 – Übereinstimmung der Beobachter bei FF_{man}	61
Tabelle 5 – Ergebnisse der quantitativen teilautomatischen Evaluation (FF_{aut})	62
Tabelle 6 – Übereinstimmung der Beobachter bei FF_{aut}	63
Tabelle 7 – Ergebnisse für erhobene klinische Daten	63
Tabelle 8 – Ergebnisse der klinischen Tests je Mercuri Score (I)	64
Tabelle 9 – Spearmans Korrelationskoeffizient (ρ) für FF_{man} und klinische Tests	66
Tabelle 10 – Spearmans Korrelationskoeffizient (ρ) für FF_{aut} und klinische Tests	69
Tabelle 11 – Spearmans Korrelationskoeffizient (ρ) für FF_{man} und Mercuri Score	71
Tabelle 12 – Spearmans Korrelationskoeffizient (ρ) für FF_{aut} und Mercuri Score	72
Tabelle 13 – Korrelation FF_{man} und FF_{aut}	74
Tabelle 14 – Steigers Z für MRC mit FF_{man} und FF_{aut}	74
Tabelle 15 – Ergebnisse der Follow-Up-Untersuchungen unter ERT	75
Tabelle 16 – Veränderung der FF_{aut} -Werte von U1 bis FU2	77

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 – Pathogenese des Morbus Pompe	18
Abbildung 2 – Einteilung Morbus Pompe	25
Abbildung 3 – Aus der MRT abgeleitete Messung der FF_{man}	55
Abbildung 4 – Aus der MRT abgeleitete Messung der FF_{aut}	56
Abbildung 5 – Ergebnisse der klinischen Tests je Mercuri Score (II)	65
Abbildung 6 – Streudiagramm FF_{man} & 6-Minuten-Gehtest	67
Abbildung 7 – Streudiagramm FF_{man} & 4-Stufen-Steigtest	67
Abbildung 8 – Streudiagramm FF_{man} & FVC_{sitzend}	67
Abbildung 9 – Streudiagramm FF_{man} & FVC_{liegend}	67
Abbildung 10 – Streudiagramm FF_{man} & Creatinkinase-Werte	67
Abbildung 11 – Streudiagramm FF_{aut} & 6-Minuten-Gehtest	69
Abbildung 12 – Streudiagramm FF_{aut} & 4-Stufen-Steigtest	69
Abbildung 13 – Streudiagramm FF_{aut} & FVC_{sitzend}	70
Abbildung 14 – Streudiagramm FF_{aut} & FVC_{liegend}	70
Abbildung 15 – Streudiagramm FF_{aut} & Creatinkinase-Werte	70
Abbildung 16 – Repräsentative Korrelationen zwischen Mercuri Score und FF_{man} ...	71
Abbildung 17 – Repräsentative Korrelationen zwischen Mercuri Score und FF_{aut}	73
Abbildung 18 – Verlauf der FF_{aut} der paraspinalen Muskelgruppe	76
Abbildung 19 – Verlauf von FF_{aut} unter ERT für den Musculus psoas	78
Abbildung 20 – Verlauf von FF_{aut} unter ERT für die paraspinale Muskulatur	79

1. Einleitung

Die Glykogenose Typ II, auch bekannt als Morbus Pompe oder saure Maltase-Mangel, ist eine angeborene, autosomal rezessiv vererbte, lysosomale Glykogenspeicherkrankheit („glycogen storage disease type II“, GSD II). Die Ursache liegt in einer Mutation des Gens, welches das lysosomale Enzym saure α -Glukosidase kodiert. Das Enzymdefizit verursacht bei den Patienten eine große Bandbreite an klinischen Symptomen, die je nach Verlaufsform vor allem durch Schädigung von Skelettmuskelzellen entstehen. Die fettige Degeneration dieser Zellen führt zu einer progredienten Kraftminderung, insbesondere der Paravertebral-, Oberschenkel- und Atemmuskulatur. Die infantile Form des Morbus Pompe endet meist innerhalb des ersten Lebensjahres tödlich. Bei der juvenilen oder adulten Form treten erst später Symptome auf. Seit 2006 existiert eine kausale Behandlung in Form einer Enzyersatztherapie („enzyme replacement therapy“, ERT) (2).

Die Evaluierung des Krankheitsverlaufes erfolgt hauptsächlich über klinische Untersuchungsmethoden wie beispielsweise Kraftgradmessungen (nach der Skala des Medical Research Council (3)), Vier-Stufen-Steigtest, Spirometrie oder Sechs-Minuten-Gehtest (4, 5). Einen genauen Status des Muskelzustandes liefert nur die invasive Muskelbiopsie. Diese ermöglicht jedoch lediglich eine Aussage über einen lokalisierten Befund und lässt somit keinen Rückschluss auf den Gesamtstatus der muskulären Degeneration zu. Die fettige Muskelatrophie kann sowohl intra- als auch intermuskulär erhebliche Unterschiede aufweisen (6).

Mittels Magnetresonanztomographie (MRT) lassen sich einzelne Muskelgruppen nicht-invasiv und objektiv im zeitlichen Verlauf vergleichbar untersuchen (7, 8). Die Bewertung der Muskeldegeneration erfolgt in der klinischen Routine meist visuell bzw. semi-quantitativ. Hierzu wird bei neuromuskulären Erkrankungen eine 4-stufige Skala, der so genannte Mercuri Score, angewendet (9, 10).

Um den Krankheitsverlauf und den Progress der degenerativen Muskelveränderungen evaluieren zu können, sind jedoch genauere, idealerweise quantitative Untersuchungsmethoden nötig. Die Notwendigkeit einer präzisen und sensiblen Differenzierungsmöglichkeit der muskulären Veränderungen ergibt sich besonders durch die Etablierung der Enzyersatztherapie. Mit der Dixon-Technik existiert bereits

eine Möglichkeit, die Fettfraktion in einem Muskel zu quantifizieren. Auch Protonendichtemessungen erlauben eine solche quantitative Evaluation (11). Gemeinsamer Nachteil dieser Methoden ist, dass sie nicht in der Breite verfügbar sind und speziell ausgewertet werden müssen.

Auch mit Hilfe konventioneller MRT-Sequenzen lässt sich der Fettanteil der Muskulatur quantifizieren. Dies wurde zum Beispiel anhand von Patienten mit muskuloskelettalen Erkrankungen untersucht und auch bei Patienten mit Morbus Pompe bereits angewendet (12). Grundlage dieser Methoden ist jeweils eine Separation von Fett- und Muskelanteilen anhand der Signalintensität in T1- oder T2-Wichtung.

2. Ziel der Arbeit

Das Ziel dieser Arbeit war die Evaluierung zweier quantitativer Methoden auf der Grundlage der konventionellen T1- und T2-gewichteten MRT zur Beurteilung der fettigen Muskeldegeneration bei Patienten mit juvenilem oder adultem Morbus Pompe („late-onset“ Pompe disease, LOPD). Die untersuchten Methoden ermöglichen es, bereits verfügbare, ältere und routinemäßig aufgenommene MRT-Bilder quantitativ zu analysieren. Hierzu wurden die MRT-Bilder von 46 Patienten in dem Zeitraum von 2006 bis 2015 retrospektiv ausgewertet.

Weiteres Ziel der Auswertung war die Korrelation der quantitativen MRT-Parameter mit verschiedenen klinischen sowie laborchemischen Markern der Erkrankungsschwere. Zudem wurde bei einem Teil der Patienten der Verlauf unter Enzyersatztherapie mit rekombinanter humaner α -Glukosidase bewertet.

3. Literaturdiskussion

Morbus Pompe ist eine seltene, autosomal rezessiv vererbte Erkrankung, welche durch das Fehlen bzw. eine verminderte Funktion der lysosomalen α -Glukosidase charakterisiert ist. Sie gehört zu der Gruppe der Glykogenspeicherkrankheiten („glycogen storage disease“, GSD) bzw. Glykogenosen, die mit einem Defekt der Glykogenolyse einhergehen (13).

Die Gemeinsamkeit der Glykogenosen besteht in der vermehrten Anreicherung von Glykogen in allen stoffwechselaktiven Zellen. Hiervon sind vorwiegend Leber- und Muskelzellen betroffen. Im Unterschied zu anderen GSD besteht bei Patienten mit Morbus Pompe jedoch kein Fehler im Abbauprozess des Glykogens. Das abgelagerte Glykogen weist eine normale Struktur auf. Zusätzlich besteht im Gegensatz zu den meisten GSD keine Hypoglykämieeigung (14).

Das spezifische Enzymdefizit des Morbus Pompe hat eine intralysosomale Glykogenakkumulation in verschiedenen Gewebearten zur Folge, unter anderem auch in der Skelettmuskulatur (2).

Klinisch kann sich die Erkrankung vielseitig bemerkbar machen, wobei sich die klassisch infantile („early-onset“) von der juvenilen bzw. adulten („late-onset“) Verlaufsform unterscheidet. Beide manifestierten sich vor allem muskulär. Symptomatisch äußert sich dies in einer voranschreitenden Schwäche vor allem der Rumpf-, Extremitäten- und Atemmuskulatur. Bei der „late-onset“ Verlaufsform kommt es zusätzlich zu einer kardialen Beteiligung. Die Prognose der Erkrankung hängt entscheidend vom Alter des Auftretens erster Symptome, dem Grad des Organbefalls und dem Voranschreiten der Erkrankung ab und kann bis zum Tod führen (13).

Der Mangel an α -Glukosidase, welcher spezifisch für die GSD Typ II ist, stellt die erste beschriebene der ungefähr 40 lysosomalen Speicherkrankheiten dar (13).

3.1. Epidemiologie

Glykogenspeichererkrankungen sind insgesamt sehr selten. Die in der Literatur beschriebenen Inzidenzen variieren je nach Studie und untersuchter ethnischer Population stark. Morbus Pompe ist mit 15% die häufigste der bekannten GSD und hat je nach ethnischer Zugehörigkeit eine Inzidenz von 1:40.000 bis 1:300.000 (15). Die

höchste Inzidenz des klassisch infantilen Morbus Pompe findet sich unter Afro-Amerikanern und Chinesen (13). In Europa kommt die Erkrankung mit einer Inzidenz von ungefähr 1:20.000 bis 1:25.000 vor. Für Deutschland existieren keine genauen Werte zur Anzahl der Betroffenen. Derzeit sind, anhand der in den Selbsthilfegruppen registrierten Fällen, schätzungsweise 300 an Morbus Pompe erkrankte Patienten bekannt (16).

Laut einer Studie aus den Niederlanden, bei der Neugeborene mit Hilfe eines Trockenbluttestes (Guthrie cards) auf die drei häufigsten Genmutationen in der niederländischen Bevölkerung untersucht wurden, beläuft sich die geschätzte Inzidenz auf insgesamt 1:40.000. Diese lag dabei für die klassisch-infantile Form bei 1:138.000 und die für die „late-onset“ Form bei 1:57.000. Da bei den Untersuchungen nur auf 63% der in der niederländischen Bevölkerung bekannten krankheitsverursachenden Allele untersucht wurde gehen die Verfasser dieser Studie von einer insgesamt höheren Inzidenz aus (17). Eine ähnliche niederländische Studie von Poorthuis et al., welche die Häufigkeit in der Bevölkerung untersuchte, stellte eine Gesamtprävalenz von 1:50.000 fest (18). Auch bei der genetischen Untersuchung 928 zufällig ausgewählter New Yorker wurden ähnliche Prävalenzen ermittelt. Durch die Analyse von sieben der häufigsten Mutationen, welche insgesamt 29% aller Mutationen bei Morbus Pompe Patienten ausmachen, bezifferten Martiniuk et al. eine geschätzte Gesamtprävalenz von 1:40.000 (19). Eine australische Studie gab die dortige Prävalenz mit 1:146.000 deutlich geringer an (20).

In einer Studie zur Evaluation des Neugeborenen-Screenings in Österreich wurde hingegen eine wesentlich höhere Inzidenz von 1:8.656 für beide Formen zusammen beobachtet (21). In Missouri lag die im Rahmen einer landesweiten Pilotstudie mit allen Neugeborenen ermittelte Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von Morbus Pompe mit einem Wert von 1:5.463 noch höher (22).

3.2. Geschichte

Die Erstbeschreibung des heute als klassisch infantile Form des Morbus Pompe bekannten Symptomkomplexes erfolgte durch den niederländischen Pathologen Johannes Cassianus Pompe (* 1901 - † 1945). In seiner wissenschaftlichen Arbeit „Over idiopathische hypertrophie van het hart“, die er im Jahr 1932 veröffentlichte, führte er zusätzlich zu dem bereits zuvor bekannten Symptomkomplex erstmalig auch eine Glykogenablagerung in allen untersuchten Gewebearten auf (13, 23).

Pompe berichtete den Fall eines sieben Monate alten Mädchens, das 1930 nach vier Tagen mit persistierendem Fieber und respiratorischen Beschwerden verstarb. Die Besonderheit lag darin, dass das betroffene Kind zuvor gesund schien und keine wesentlichen bekannten Vorerkrankungen hatte. Ursprünglich von einer Pneumonie ausgehend, ergab die Autopsie eine Kardiomyopathie, Hypotonie und eine Muskelerkrankung. Strukturelle, angeborene Defekte des Herzens ließen sich im Rahmen der Obduktion nicht nachweisen. Auch die Koronarien und großen Thorakalgefäße stellten sich unauffällig dar. Daher führte Pompe zur weiteren Ursachenklärung eine histologische Untersuchung des Myokards durch. Hierbei fanden sich vakuolenartige Formationen mit einer vermehrten Glykogenablagerung im Bereich der Muskelfasern. Analysen weiterer Organe zeigten auch in Leber, Niere, Nebenniere und Skelettmuskulatur ähnliche vakuolenartige Veränderungen und eine vermehrte Ablagerung von Glykogen.

Im Gegensatz zu ähnlichen, vorher veröffentlichten Fällen beschrieb Pompe eine „Cardiomegalia glycogenica diffusa“ und erstmalig die Erkrankung in seiner klassisch infantilen Form (24, 25).

Im gleichen Jahr erwähnten auch die zwei deutschen Ärzte Bischoff und Putschar unabhängig voneinander ähnliche Befunde (14, 26, 27).

Wegweisend für das Verständnis der pathophysiologischen Prozesse der Glykogenosen waren neben Pompe zur selben Zeit auch andere Forschungsgruppen. Bereits 1929 vermutete der deutsche Biochemiker Schönheimer bei einer siebenjährigen Patientin mit pathologischer Glykogenablagerung in Leber und Nieren, dass wahrscheinlich ein Enzymmangel für diese Ansammlungen verantwortlich sein könnte (28). Seine Methode, Moleküle mit stabilen Isotopen biochemisch zu kennzeichnen, ermöglichte die Untersuchung von Stoffwechselvorgängen auch innerhalb einzelner Zellorganellen (29).

In den folgenden Jahren wurden weitere Fallberichte mit ähnlichen Befunden veröffentlicht. Neben der hypertrophen Kardiomyopathie wurden eine Lebervergrößerung, Muskelschwäche und Makroglossie beschrieben. Nur wenige der Kinder erreichten das zweite Lebensjahr (30, 31).

Auch die Beobachtungen des Ehepaars Cori spielten, neben histologischen Erkenntnissen von Pompe und den biochemischen Analysen von Schönheimer, eine bedeutende Rolle bei der Erforschung des Glykogenstoffwechsels. Sie entschlüsselten 1952 den Abbauweg des Glykogens und konnten hierdurch die metabolische Grundlage der angeborenen Störungen des Glykogenstoffwechsels identifizieren. Das Ehepaar definierte die „Pompe-Krankheit“ als GSD Typ II, konnte das fehlende Enzym der Erkrankung jedoch noch nicht benennen (32). Für ihre „Entdeckung der katalytischen Umwandlung von Glykogen“, welche den Glukosestoffwechsel und dessen Abbauprodukte beschreibt, erhielten sie 1947 den Nobelpreis für Medizin und Physiologie (33).

De Duve gelang es im Jahr 1955, im Rahmen seiner Bestrebungen die am Glykogenstoffwechsel beteiligten Zellstrukturen zu erforschen, intrazelluläre Bestandteile zu entdecken. Diese bezeichnete er als Lysosome (34). Sie enthalten hydrolytische Enzyme, welche bei saurem pH-Wert aktiv und an der Entsorgung von zellulären und extrazellulären Bestandteilen beteiligt sind (14, 35).

Im Jahr 1963 gelang es dem belgischen Biochemiker Hers die saure α -Glukosidase nachzuweisen. Hierbei handelte es sich um ein lysosomales Enzym, welches ebenfalls bei saurem pH aktiv ist. Dieses setzt Glukose aus Maltose oder Glykogen durch Hydrolysierung der Bindung an den Positionen α -1,4 und α -1,6 frei (14, 36). Durch seine Untersuchungen konnte er zeigen, dass ein Mangel an lysosomaler α -Glukosidase ursächlich für Morbus Pompe ist. Bei fünf Patienten mit einer Schwäche der Skelettmuskulatur wies Hers nach, dass dieses Enzym fehlte und hierdurch bedingt eine pathologische Glykogenakkumulation hervorgerufen wurde. Vier dieser Patienten wiesen Symptome der klassischen Form des Morbus Pompe auf (36). Hers stellte hierdurch einen Zusammenhang zwischen dem Mangel an α -Glukosidase und der vermehrten Ablagerung von Glykogen her. Mit Hilfe dieser Erkenntnisse war es möglich, eine Systematik der lysosomalen Speicherkrankheiten zu entwickeln.

Im Rahmen seiner Untersuchung beobachtete Hers jedoch bei einem Patienten eine verminderte Aktivität der α -Glukosidase, allerdings ohne die dabei typischerweise auftretende Herzhypertrophie. Dies deutete erstmals auf die biochemische Varianz

und die daraus hervorgehenden unterschiedlichen Manifestationsgrade des Morbus Pompe hin (14, 36).

In den folgenden Jahren erschienen mehrere klinische Publikationen auch über junge Erwachsene sowie ältere Patienten mit progredienter Muskelschwäche und einer damit einhergehenden reduzierten Aktivität der α -Glukosidase. Diese werden heute als juvenile und adulte Subentität des Morbus Pompe klassifiziert. Entsprechend der verminderten Enzymaktivität der α -Glukosidase ließ sich in allen betroffenen Fällen eine pathologische Glykogenablagerung nachweisen. Im Unterschied zu der bereits bekannten klassisch infantilen Form des Morbus Pompe wiesen diese Patienten einen wesentlich milderen klinischen Verlauf mit späterem Symptombeginn und keine kardiale Beteiligung auf (14, 37). Die adulte Verlaufsform des Morbus Pompe wurde 1968 erstmals durch Engel und Dale (37, 38) sowie Hudgson (39) beschrieben.

Im Jahr 1979 gelang es D'Ancona das verantwortliche Gen für die Kodierung der α -Glukosidase auf Chromosom 17q25 zu lokalisieren (14, 40). Durch diese Zuordnung und die Sequenzierung des Gens eröffnete sich erstmals die Möglichkeit der Mutationsanalyse und der Genotyp/Phänotyp-Korrelation. Seit der Aufschlüsselung der Gensequenz konnten über 550 verschiedene Mutationen beschrieben werden, von denen 442 als krankheitsverursachend gelten (41, 42).

Erste Therapieversuche erfolgten 1967 bei einer drei Monate alten Patientin mit klassisch infantiler Verlaufsform unter Verwendung einer aus dem Schimmelpilz *Aspergillus niger* gewonnenen α -Glukosidase. Der Patientin wurde jeweils vor und nach dem 18-tägigen Zeitraum der Behandlung mit intravenös appliziertem Pilzextrakt Leberbiopsat entnommen. Nach der Behandlung konnte eine Erhöhung der Aktivität von α -Glukosidase in der Leber gemessen werden, welche zu einer Verminderung von lysosomalem Glykogen führte (43). Die beschriebenen Effekte dieser anfänglichen Enzymersatztherapie waren jedoch nur vorübergehend. Eine Verbesserung der muskulären Probleme konnte nicht erzielt werden. Aufgrund der starken Nebenwirkungen der mit den benötigten hohen Dosen einhergehenden Therapie, musste diese beendet werden. Es zeigte sich, dass die aus nicht humanen Quellen gewonnene α -Glukosidase bei Menschen eine Immunreaktion hervorruft, welche lediglich suboptimale Dosen zur Behandlung zulässt (44, 45).

Die ersten Therapieversuche mit aus Plazenta gewonnener humaner α -Glukosidase erfolgten im Jahr 1973 (46). Um die Enzyersatztherapie effektiver zu gestalten, koppelten Reuser et al. 1984 in einer Versuchsreihe eine aus Rinderhoden und Plazenta gewonnene α -Glukosidase mit einem Liganden des Mannose-6-Phosphat-Rezeptors der Zielzellen. Mit Hilfe dieses Verfahrens gelang es ihnen, in kultivierten humanen Skelettmuskelzellen eines Patienten mit Morbus Pompe den Mangel an saurer Maltase komplett auszugleichen (47). 1991 beschrieben van der Ploeg et al. die erste gelungene intravenöse Applikation von α -Glukosidase, welche aus Ovarialzellen des chinesischen Hamsters gewonnen wurde, bei Mäusen (48).

Da sich die Verwendung einer nicht humanen α -Glukosidase aufgrund der Immunogenität zur Therapie ungeeignet zeigte, versuchte man eine rekombinante humane GAA (rhGAA) zu generieren.

Schließlich gelang es Fuller et al. 1995 mittels eines Vektors eine α -Glukosidase-cDNA in chinesischen Hamsterovarialzellen zu exprimieren. Auf diese Weise konnte zum ersten Mal rekombinant hergestellte GAA gewonnen werden (49).

Eine weitere Möglichkeit rekombinante GAA zu erzeugen entwickelten Bijvoet et al., indem sie das Enzym aus der Milch von transgenetisch veränderten Mäusen isolierten, denen zuvor das fusionierte Produkt aus humanem α -Glukosidase-Gen und bovinem α -S1-casein-Gen in Oozyten injiziert worden war (50).

Die vielversprechenden Ergebnisse dieser in-vitro- und in-vivo-Studien führten zum Beginn klinischer Studien. Im Jahr 1999 wurde die erste Untersuchung zur Wirkung und Sicherheit von rekombinanter humaner α -Glukosidase aus Kaninchenmilch bei Patienten mit klassisch infantilem Morbus Pompe durchgeführt. Van den Hout et al. untersuchten die Wirkung im Rahmen einer single-center Studie mit insgesamt vier Patienten. Im Zuge der Verlaufskontrollen verbesserte sich nach 12 Wochen die motorische Funktion der Skelett- als auch der Herzmuskulatur deutlich. Nach weiteren 12 Wochen unter Therapie und Verdoppelung der Dosis konnte eine Normalisierung der Enzymaktivität erreicht werden (51, 52).

Eine weitere klinische Studie, welche im Jahr 2005 begonnen wurde, zeigte ähnliche Ergebnisse in Bezug auf die Reduktion der Herzgröße und die Verbesserung der Herzfunktion nach Gabe von rhGAA über 48 Wochen.

Im Rahmen von Untersuchungen mit erhöhten Dosen entwickelten die Patienten im Verlauf, im Unterschied zu den vorangegangenen Untersuchungen, vermehrte IgG-

Antikörper gegen das verabreichte Enzym (53). Der Vorteil einer höheren Enzymdosis ging mit einem erhöhten Risiko der Bildung von Antikörpern einher. Dies kann zur Entwicklung eines nephrotischen Syndroms führen, wie Hunley et al. beschrieben (54). Amalfitano et al. berichteten 2001 in einer Phase I/II Studie von drei Kindern, denen alle zwei Wochen über ein Jahr rekombinante GAA aus chinesischen Hamsterovarien verabreicht wurde. Die Verlaufsuntersuchungen ergaben ebenfalls eine Normalisierung der Herzfunktion sowie eine verbesserte Muskelkraft (55). Auf diesen Ergebnissen aufbauend wurde in einer weiterführenden Studie durch Kishnani et al. die Wirksamkeit bei 18 Patienten mit klassisch infantilem Morbus Pompe und einem Diagnosealter von sechs Monaten oder jünger untersucht. Sie erhielten alle zwei Wochen entweder 20 mg/kg Körpergewicht (KG) oder 40 mg/kg KG rhGAA über einen Zeitraum von 52 Wochen. Alle Patienten überlebten den 18. Lebensmonat. 15 von 18 Studienteilnehmern wurden nicht beatmungspflichtig. Im Vergleich überlebte in der historischen Kontrollgruppe von 42 Patienten nur ein Patient (56).

Durch die erfolgreichen Ergebnisse dieser Studien erhielt 2006 die aus chinesischen Hamsterovarien gewonnene humane rekombinante α -Glukosidase unter dem Namen „Alglucosidase alfa“ (Myozyme®) der Firma Genzyme die Zulassung zur Therapie bei Morbus Pompe. In Europa erfolgte die Zulassung durch die European Medicines Agency (EMA) und in den USA durch die amerikanische Arzneimittelzulassungsbehörde (US Food and Drug Administration, FDA) (57).

Die erste Studie einer Enzyersatztherapie bei der „late-onset“ Form des Morbus Pompe zeigte auch bei mildereren Verlaufsformen über einen Zeitraum von drei Jahren bei drei Patienten eine deutliche Verbesserung der muskulären Funktion. Am meisten profitierte der jüngste in die Studie eingeschlossene Patient von der Behandlung (58).

2004 wurde eine weltweite Datenbank von Patienten mit der Glykogenose Typ II unter dem Namen „Pompe registry“ ins Leben gerufen. Es handelt sich um ein langfristiges, multinationales Beobachtungsprogramm zur besseren Verfolgung der Krankheit und der Behandlungsergebnisse. Ziel dieser Datensammlung ist es, ein tieferes Verständnis über die Erkrankung zu gewinnen, regionale Unterschiede zu identifizieren und die langfristige Wirksamkeit und Sicherheit der zur Verfügung stehenden Behandlungsmöglichkeiten zu überwachen und zu bewerten. Alle

Patienten mit einer bestätigten Diagnose können sich unabhängig von Schweregrad der Krankheit oder Behandlungsstatus in das Register eintragen lassen (59).

3.3. Ätiologie und Pathogenese

Patienten mit Morbus Pompe mangelt es an funktionsfähiger lysosomaler saurer α -Glukosidase. Grund für den Enzymmangel ist ein Gendefekt in einem der 19 Exons des für die α -Glukosidase kodierenden Gens auf dem distalen Ende des Chromosoms 17q25.2-q25.3. Unterschiedliche Mutationsformen wie Insertions- und Deletionsmutationen, welche eine Missense- oder Nonsensemutation verursachen, sind hierfür verantwortlich. Am häufigsten liegt bei Kindern und Erwachsenen mit langsam voranschreitendem Krankheitsverlauf eine c.-32-13T>G Mutation im Intron 1 vor (2).

Diese Gendefekte führen auf unterschiedliche Art und Weise zu einer Funktionsstörung der α -Glukosidase und resultieren in einer verringerten Enzymaktivität. Aufgrund einer Vielzahl von möglichen Mutationen können unterschiedliche Bereiche der Enzymsynthese betroffen sein. Die Mutationen können aber auch zu einer gestörten Proteinfaltung führen (13).

Zu einer klinischen Manifestation kommt es ab einer Reduktion der Enzymaktivität auf unter 25 - 30%. Als Folge der verminderten Enzymaktivität kann Glykogen, welches über Makro- oder Mikroautophagie in die Lysosomen gelangt, schlecht oder gar nicht abgebaut werden (60). Dies führt zu einer fortschreitenden und irreversiblen zellulären Schädigung vor allem der Skelettmuskelfasern. Glykogen ist ein Glukosepolymer und wird von verschiedenen Zellen des menschlichen Organismus zur effizienten Energiespeicherung genutzt. Besonders stoffwechselaktive Organe wie Leber, Herz, Skelettmuskulatur und Gehirn nutzen Glykogen als Hauptenergiespeicher. Glukose ist zwar ein wichtiger Energielieferant des menschlichen Organismus, kann jedoch nicht in ausreichender Menge gespeichert werden, da hohe Konzentrationen von Glukose innerhalb der Zelle das osmotische Gleichgewicht stören. Dies kann zu Zellschäden oder Zelltod führen. Aus diesem Grund wird Glukose als nicht osmotisch aktives Glykogen gespeichert. Dabei handelt es sich um ein sehr großes, verzweigtes Polymer von Glukoseresten, die sowohl α -1,4-glykosidisch als auch α -1,6-glykosidisch

verbunden sind. Glykogen kann schnell abgebaut werden, um Glukosemoleküle bereitzustellen, wenn Energie benötigt wird (61).

Die meisten Gewebe enthalten Glykogen. Die zwei Hauptspeicherorte sind jedoch die Leber und die Skelettmuskulatur. Das Glykogen befindet sich vor allem im Zytoplasma und liegt hauptsächlich in Form eines Granulats vor (61). Durch verschiedene autophagische Prozesse gelangt es auch in die Lysosome (62). Dort baut die α -Glukosidase das Glykogen, Maltose und Oligosaccharide ab, indem es die α -1,4- und α -1,6-Bindungen hydrolysiert und Glukose freisetzt (63). Durch den Mangel an lysosomaler α -Glukosidase bei Morbus Pompe kommt es zu einer intralysosomalen Glykogenanreicherung. Dies hat ein Anschwellen der Lysosome zur Folge. Durch deren Vergrößerung werden andere relevante Zellorganellen verdrängt und in ihrer Funktion eingeschränkt (14).

Das Lysosom ist ein integraler Bestandteil des endosomalen/lysosomalen Systems und ist eng mit den Ubiquitin-proteosomalen und autophagosomalen Systemen verbunden. Diese stellen zusammen eine wesentliche Einrichtung der Zelle für den Substratabbau, das Recycling, die homöostatische Kontrolle und die Signalübertragung dar. Letztendlich überfordert die Anreicherung nicht abgebauter Substrate das endosomale/lysosomale System, die normalen Zellfunktionen brechen zusammen und die Zellen sterben (64).

Die Makroautophagie ist ein Abbauweg, über welchen intrazelluläre Proteine und Organellen zur Entsorgung und Wiederverwertung zum Lysosom transportiert werden. Während dieses Prozesses stülpt sich die äußere Doppelmembran um einen Teil des Zytoplasmas und die darin enthaltenen Organellen. Dieses Vesikel wird als Autophagosom bezeichnet. Die äußere autophagosomale Membran verschmilzt anschließend mit der lysosomalen Membran, wodurch das innere Vesikel in das Lumen des Lysosoms gelangt. Innerhalb des Lysosoms wird die autophagische Masse durch Hydrolasen abgebaut und die entstehenden Moleküle werden recycelt (65).

Die Fusion zwischen dem Autophagosom und dem Lysosom ist ein entscheidender Schritt in diesem Prozess (66).

Durch die Autophagie reguliert die Zelle auch den Umsatz von Organellen, wie Mitochondrien, Peroxisomen und endoplasmatischem Retikulum. Über diese basale Aktivität hinaus kann die Autophagie als Reaktion auf viele ungünstige Umstände induziert werden: Während eines Nährstoffmangels ermöglicht die Autophagie die

Bildung von Adenosintriphosphat (ATP) aus dem Katabolismus von Makromolekülen; während des oxidativen Stresses erlaubt die Induktion von Autophagie die effiziente Beseitigung geschädigter Organellen und Proteine aus der zytoplasmatischen Umgebung, womit sie als überlebenswichtiger Mechanismus fungiert. Diese Funktionen sind aufgrund des Mangels an α -Glukosidase grundlegend gestört (66).

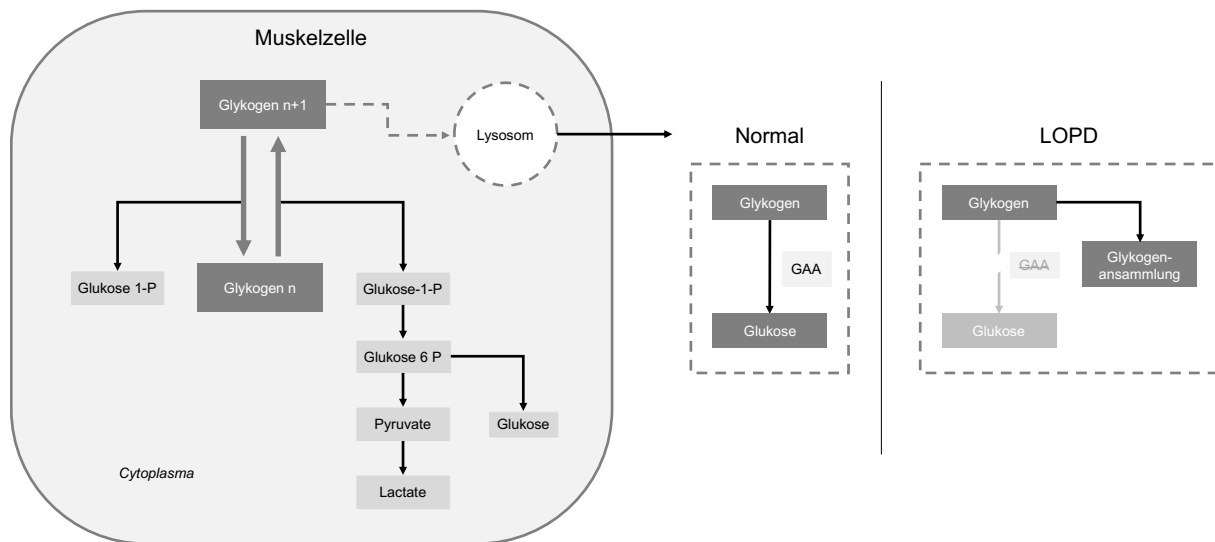


Abbildung 1 – Pathogenese des Morbus Pompe

Schematische Darstellung des Glykogenabbaus in gesunden Zellen (links) und des gestörten lysosomalen Glykogenabbaus bei Patienten mit Morbus Pompe durch ein Defizit an funktionstüchtiger α -Glukosidase (rechts). Modifiziert nach Geel et al. (45).

3.3.1. Pathologie der Skelettmuskulatur

Das auffälligste Merkmal der GSD Typ II ist eine zunehmende Muskelschwäche. Der genaue zugrundeliegende pathologische Mechanismus ist bislang nicht vollständig geklärt.

Die progrediente Muskelschwäche kann durch eine Abnahme der kontraktilen Muskelmasse oder durch eine Abnahme der Muskelqualität, das heißt der Muskelleistung pro Masseinheit, verursacht werden. Die genauen Beiträge von Muskelschwund und Verlust der Muskelqualität während des Fortschreitens der Erkrankung sind noch unbekannt (67-69). Auch der Ablauf, über welchen die lysosomale Glykogenanreicherung zu einer Schädigung der Myozytenfunktion führt, ist nicht vollständig geklärt. In der Literatur werden unterschiedliche Erklärungsansätze diskutiert. Die seit vielen Jahren vertretene Theorie nach Griffins (70) verfolgt die

Ansicht, dass Muskelschäden entstehen, weil Lysosome in Muskelzellen im Gegensatz zu anderen Zellen nur einen begrenzten Raum haben, in dem sie sich ausdehnen können. Dies führt zu mechanischem Druck und als Folge zu ihrem Zerreißen (70-72). Auf diesem Wege gelangen Glykogen und toxische Stoffwechselprodukte ins Zytoplasma. Elektronenmikroskopisch zeigten sich gerissene lysosomale Membrane in Abhängigkeit des Krankheitsprogresses (70).

Mit Hilfe von Mausmodellen für die GSD II lassen sich die pathologischen Auswirkungen genauer untersuchen und es ist möglich, die biochemischen und histologischen Daten mit der Muskelleistung zu korrelieren (69).

In diesen experimentellen Untersuchungen zeigte sich, dass die Muskelatrophie jedoch nur ungefähr ein Drittel des Rückgangs der Muskelleistung erklärt; zwei Drittel des Rückgangs der mechanischen Leistung ist demnach auf eine Abnahme der Muskelqualität mit voranschreitendem Alter zurückzuführen (67).

Sowohl durch Muskelbiopsien von erkrankten Patienten als auch durch Tiermodelle mittels knock-out Mäusen ist eine Anreicherung von PAS-positiven Vakuolen belegt worden, bei denen es sich unter anderem um glykogengefüllte Lysosome handelt (13, 70, 73-75).

Die Studien von Cardiff (76) und Griffin (70) haben gezeigt, dass im Zytoplasma der Muskelfasern von GSD II-Patienten zahlreiche nicht-kontraktile Einschlüsse, einschließlich Glykogen-gefüllter Lysosome, vorhanden sind (68).

Die großen Cluster aus nicht-kontraktilen Material im Zytoplasma behindern die Funktion des Muskels (69). Im Gegensatz zu den Sarkomeren sind diese Einschlüsse nicht in der Lage, aktiv Kraft zu erzeugen. Die Sarkomere verformen sich in der Nähe dieser Einschlüsse während der Kontraktion nicht gleichmäßig, was zu Inhomogenitäten der Sarkomerlänge im betroffenen Muskel und damit zu einer Abnahme der mechanischen Leistung des Muskels führt (69). Die mechanischen Effekte der Glykogeneinschlüsse können jedoch alleine den Verlust der Muskelkraft im Mausmodell nicht vollständig erklären. Demnach müssen zusätzliche Faktoren eine Rolle spielen (67).

Neuere Studien haben gezeigt, dass insbesondere Anomalien in an der Autophagie beteiligten Vesikeln bereits in frühen Stadien den Krankheitsverlauf bei Morbus Pompe bestimmen können. Durch die Vergrößerung und Vermehrung der Vakuolen kommt es

im Verlauf zusätzlich zu einer progredienten Störung der subzellulären Abläufe (64-66). Dies hat eine Beeinträchtigung der endozytischen und autophagozytischen Prozesse zur Folge. Betroffen sind sowohl die langsamen Typ I- als auch die schnellen Typ II-Muskelfasern, in denen eine Autophagozytose induziert wird.

Durch die Störung der Autophagozytose werden toxische Stoffwechselprodukte und andere Zellbestandteile, die innerhalb des Zytosols anfallen, nicht mehr in die Lysosome transportiert und dort abgebaut. Dies bedingt eine zelluläre Dysfunktion (77).

Sowohl bei langsamen (Typ I) als auch bei schnellen (Typ II) Fasern in GAA knock-out Mäusen ist die Autophagie hochreguliert. Dies führt jedoch nur bei schnellen Fasern zu einer ineffizienten Entsorgung der autophagen Ladung und daraus resultierend zu einer Anhäufung von Ubiquitin-positiven Körpern (65, 78). In den Typ II-Muskelfasern kommt es zusätzlich zu einer Behinderung der Fusion der Autophagosomen mit den Lysosomen (65). Dies resultiert in großen, sich fast über die gesamte Länge erstreckenden Ansammlungen von Autophagozyten. Sie nehmen teilweise über 40% des Zellvolumens ein und sind häufig zentral lokalisiert (78, 79).

Interessanterweise zeigten sich im Mausmodell die Skelettmuskelfasern vom Typ II weniger empfindlich gegenüber der ERT als Typ I- Muskelfasern. Im Tiermodell scheint die ERT das Glykogen aus Typ I-reichen Muskeln, trotz der initial höheren Glykogenanreicherung, effizienter im Vergleich zu Typ II-reichen Muskeln zu entfernen (78).

Der Transport von Glykogen vom Zytoplasma zu den Lysosomen bedarf keiner Autophagie, wie eine Studie an GSD II knock-out Mäusen mit unterdrückter Autophagozytose gezeigt hat (65). Die Mikroautophagie, der direkte Transport von Substraten zum Lysosom durch Invagination der lysosomalen Membran, kann stattdessen ein plausibler alternativer Transportweg sein (65). Im Bereich der autophagozytischen Ansammlung kommt es zusätzlich zur Ablagerung von Lipofuscin. Dieser Indikator für erhöhten oxidativen Stress beeinflusst wiederum die Muskelqualität und damit die kontraktile Leistung negativ (80). Diese morphologischen Veränderungen bewirken zunächst eine Verminderung der Kontraktionsfähigkeit der Sarkomere und letztendlich den Untergang der Muskelzelle. Sie begründen die Hauptursache für die Abnahme der Muskelkraft (67, 69). Bei Patienten mit einer klassisch infantilen Verlaufsform zeigen sich die Veränderungen in nahezu allen Muskelfasern. Hingegen können sie bei Betroffenen mit einer nicht-klassischen

Verlaufsform sowohl innerhalb eines Individuums als auch im Vergleich zu anderen Erkrankten sehr unterschiedlich lokalisiert sein (13, 81). In den Motoneuronen des zentralen Nervensystems ließen sich ebenfalls Störungen der Autophagozytose und eine vermehrte Glykogenansammlung nachweisen. Dies könnte erklären, weshalb neben der myopathischen Beeinträchtigung sekundär auch neurogene Veränderungen der Muskelfasern auftreten, welche sich zusätzlich negativ auf den Krankheitsverlauf auswirken (15, 82).

3.4. Genetik

Wie bereits beschrieben, handelt es sich bei Morbus Pompe um eine autosomal rezessiv vererbte Erkrankung mit einer beträchtlichen Allelheterogenität. Die Erkrankung wird durch eine Mutation auf dem Gen verursacht, welches die saure α -1,4-Glukosidase (GAA) kodiert (83). Das GAA-Gen befindet sich auf dem Chromosom 17q25.2-q25.3 und besteht aus 20 Exons, die über eine Länge von etwa 20 kb genomischer DNA verteilt sind. Die resultierende cDNA hat eine Länge von ungefähr 3,6 kb und wird in ein 952 Aminosäuren langes Protein umgewandelt, das an sieben verschiedenen Stellen eine posttranslationale Glycosylierung und proteolytische Prozessierung durchläuft (84-88). Bis jetzt wurden 558 Varianten im GAA-Gen beschrieben, von denen 90 Polymorphismen sind, während 468 als krankheitsverursachende Mutationen angesehen werden (41).

Die pathogenen Sequenzvariationen können verschiedenste Mechanismen der Enzymsynthese behindern. Es kann zu einer Störung der Biosynthese, der posttranslationalen Modifikation, des intrazellulären Transportes, der intralysosomalen Stabilität oder der Funktionalität des GAA-Enzyms kommen und in einem teilweisen oder vollständigen Verlust der lysosomalen GAA-Aktivität resultieren. Dies führt zu einem weniger effizienten oder vollständig ineffizienten lysosomalen Glykogenabbau (84).

Die Mutationen sind zufällig über das gesamte Gen verteilt und in den meisten Fällen einzigartig oder sehr selten. Wenige pathogene Sequenzvariationen treten in bestimmten Populationen jedoch mit einer höheren Häufigkeit auf (19).

Unter Afroamerikanern, die aus dem Norden Afrikas stammen, ist die c.2560C->T Mutation vermehrt zu beobachten. Unter Asiaten zeigt sich häufig eine Mutation von c.1935C->A.

Die mit einer Wahrscheinlichkeit von 34-47% häufigste GAA-Mutation bei kaukasischen Kindern und Erwachsenen mit Morbus Pompe ist c.-32-13T> G im ersten Intron des GAA-Gens. Sie führt zu einem unpassenden Spleißen in 80-90% der GAA-Prä-mRNA-Spleißereignisse, sodass die GAA-Aktivität auf 10-20% des Normalwertes reduziert wird (60, 84, 85, 89).

Weitere gängige Mutationen unter Kaukasiern sind c.2481 + 102_2646 + 31del, c.525del und c.925G->A.

Die Missensemutationen c.307 T> G und c.877 G> A treten in Deutschland häufiger als in anderen europäischen Ländern auf (85).

Da es sich bei Morbus Pompe um eine rezessive genetische Erkrankung handelt, müssen beide Kopien des GAA-Gens eine pathogene Sequenzvariation aufweisen, bevor sich die Krankheit als teilweiser oder vollständiger Verlust der Aktivität der sauren α -Glukosidase manifestiert. Wenn eines der beiden GAA-Allele eine pathogene Sequenzvariation beinhaltet, führt dies maximal zu einer 50%-igen Reduktion der lysosomalen GAA-Aktivität. Klinisch manifestiert sich die Erkrankung jedoch für gewöhnlich erst ab einer Restaktivität von unter 25-30% (84).

Theoretisch ist die Bestimmung des GAA-Enzymaktivitätsniveaus bei Patienten mit Morbus Pompe der direkteste und beste Indikator für den individuellen Effekt, den eine GAA-Sequenzvariation auf die GAA-Synthese und -Funktion für den Patienten hat (84). In der Praxis korrelieren Enzymaktivität und klinischer Status jedoch nicht immer (13). Da die Pompe-Krankheit durch einen Defekt in einem Gen mit einem breiten Mutationsspektrum verursacht wird, kommt es zu einer ausgeprägten klinischen Heterogenität (84). Dies zeigte sich auch in mehreren Studien, in denen das klinisch insgesamt mildere Krankheitsbild bei c.-32-13 T> G-Mutation eine breite Variabilität bezogen auf Symptomschwere und Erkrankungsprogress aufwies (60, 90, 91).

Der Ausprägungsgrad der klinischen Symptome des Morbus Pompe präsentiert sich als ein kontinuierliches Spektrum von Phänotypen, die sich durch Alter bei Krankheitsbeginn, Schweregrad der Symptome und Progressionsrate der Krankheit unterscheiden (60).

Patienten mit der klassisch infantilen Form des Morbus Pompe haben aufgrund schwerer Herzhypertrophien und generalisierter Skelettmuskelschwäche eine durchschnittliche Lebenserwartung von weniger als einem Jahr. Wenn die Erkrankung im Erwachsenenalter auftritt, sind häufig die ersten Beschwerden eine eingeschränkte Beweglichkeit und eine Gliedergürtelschwäche. Manche Patienten entwickeln auch zuerst eine respiratorische Insuffizienz (60).

Es besteht höchst wahrscheinlich eine Korrelation zwischen dem GAA-Genotyp und dem klinischen Phänotyp. Der primäre Effekt der Enzymrestaktivität auf den klinischen Verlauf des Morbus Pompe ist in vielen Studien belegt worden (92). Grundsätzlich zeigt sich in der Gruppe der nicht-klassischen Patienten eine Tendenz zu späterem Auftreten von Symptomen bei Patienten mit höheren Enzymaktivitäten (85, 93). Die am schwersten betroffenen Patienten mit dem klassisch infantilen Phänotyp weisen in fast allen Fällen eine schwere Mutation in beiden GAA-Allelen auf. Hierdurch wird die GAA-Bildung stark gehemmt oder ihre Funktion vollständig aufgehoben. In diesen Fällen hat die sehr schnelle lysosomale Glykogenakkumulation innerhalb kürzester Zeit eine destruierende Wirkung auf die Skelett- und Herzmuskelstruktur.

Der Phänotyp des klassisch infantilen Morbus Pompe ist im Vergleich zur „late-onset“ Form sehr homogen, da der vollständige GAA-Mangel wenig Raum für beeinflussende Faktoren zulässt, die sich auf den klinischen Verlauf auswirken könnten (84).

Im Rahmen einer Studie wurden unterschiedliche Verläufe bei Patienten mit der pathogenen Sequenzvariation c.-32-13T> G in einem Allel und einer sehr schweren Mutation, die nicht zur GAA-Aktivität beitrug, auf dem anderen Allel untersucht. Es zeigte sich, dass sekundäre genetische oder nicht-genetische Faktoren (sogenannte modifizierende Faktoren) zum Phänotyp der Pompe-Krankheit beitragen (84). Vergleicht man die enormen unterschiedlichen Schweregrade der Erkrankung, wird die Korrelation von Genotyp und Phänotyp deutlich. Die rasch fortschreitende Natur des klassisch infantilen Morbus Pompe wird, wie zuvor beschrieben, vollständig von der Art der GAA-Mutationen bestimmt.

Wenn bei einer Mutation hingegen ein gewisses Maß an Restaktivität der α -Glukosidase vorhanden ist, wie bei den mildereren Verlaufsformen, ist zwar die Form der GAA-Mutation in erster Linie für die Geschwindigkeit des lysosomalen Glykogenabbaus ausschlaggebend, andere Gene und Faktoren haben aber Einfluss

auf die Ausprägung der Erkrankung. Dies ließ sich beispielsweise an einer Population von Patienten mit derselben c.-32-13T> G-Spleißstellenmutation untersuchen, bei welcher der gleiche GAA-Genotyp zu verschiedenen Phänotypen führte (60). Auf jeder Ebene der Enzymsynthese gibt es modifizierende Faktoren. Diese haben einen Einfluss auf die Glykosylierung, die Konformationsänderungen während der Faltung, die Stabilität von GAA im endoplasmatischen Retikulum, dessen Transport, die Kohlenhydrat-Seitenkettenmodifikationen oder die Erkennung durch den Mannose-6-Phosphat-Rezeptor im trans-Golgi-Netzwerk. Sie können sowohl die proteolytische Aktivierung als auch die Stabilisierung von GAA in diesen Kompartimenten und in den Lysosomen beeinflussen (84).

3.5. Klinik

Die phänotypische Manifestation des Morbus Pompe weist aufgrund des breiten Mutationsspektrums eine sehr hohe klinische Variabilität auf, die vom Erkrankungsalter sowie der effektiven Restenzymaktivität abhängt. Im Wesentlichen kann in drei unterschiedliche Verlaufsformen anhand des Alters bei Erstmanifestation unterteilt werden: Klassisch infantil, juvenil und adult. Sie unterscheiden sich in Bezug auf das klinische Erscheinungsbild und meist auch auf die Enzymrestaktivität. Die gravierendste Form stellt die klassisch infantile Verlaufsform dar, welche erstmalig von Pompe 1932 beschrieben wurde. Hiervon wird die nicht-klassische Verlaufsform, im Folgenden als „late-onset Pompe disease“ (LOPD) bezeichnet, unterschieden. Diese fasst die juvenile und adulte Verlaufsform zusammen. Die juvenile Form tritt bereits im Kindesalter auf, wohingegen der Symptombeginn bei der adulten Form im Kindes- bis Erwachsenenalter liegt. Zusätzlich lässt sich eine seltenere nicht-klassisch infantile Verlaufsform beschreiben, mit einem ähnlich frühen Krankheitsbeginn, wie die klassisch infantile Form, aber einem milderem Progress. Alle Verlaufsformen haben ein multisystemisches Erscheinungsbild mit einer progredienten Muskelschwäche, eine dadurch bedingte verringerte Lungenfunktion, eine Erhöhung der Serum-Creatinkinase (CK) und eine erniedrigte GAA-Aktivität gemein (6, 84, 94).

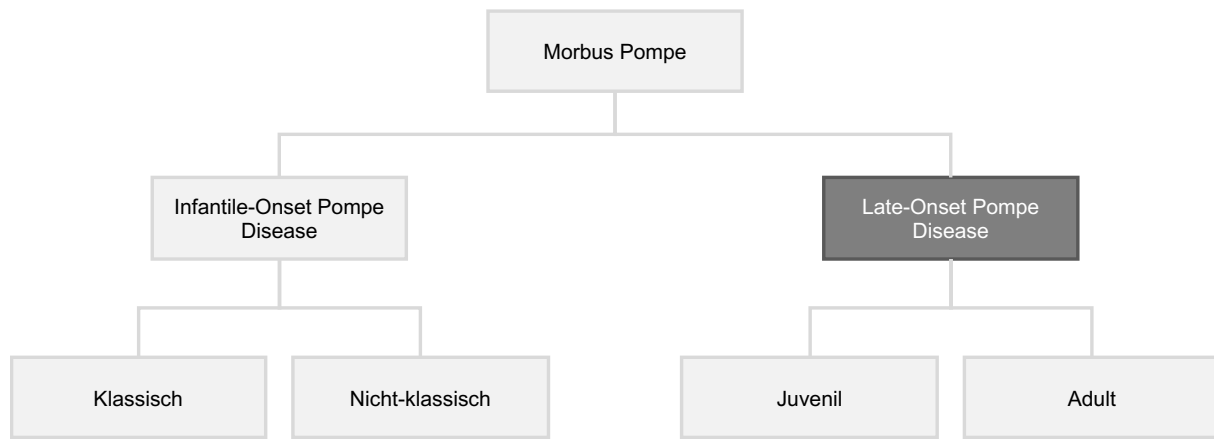


Abbildung 2 – Einteilung Morbus Pompe

Einteilung der Verlaufsformen des Morbus Pompe nach Zeitpunkt der Erstmanifestation und Verlauf der Erkrankung, modifiziert nach Kishnani et al. (94).

3.5.1. Klassisch infantiler Morbus Pompe

Die klassisch infantile Verlaufsform des Morbus Pompe, auch als „infantile-onset Pompe disease“ (IOPD) bezeichnet, weist den schwersten Krankheitsverlauf auf. Sie hat den schnellsten Krankheitsprogress und die ungünstigste Prognose. Die Erkrankung manifestiert sich durchschnittlich innerhalb des zweiten Lebensmonats und führt in der Regel im Verlauf des ersten Lebensjahres zum Tod (13, 92).

Das charakteristische Merkmal des klassisch infantilen Morbus Pompe ist die hypertrophe Kardiomyopathie. Diese hat in Verbindung mit der Beteiligung der respiratorischen Muskulatur den größten Einfluss auf die Lebenserwartung. Die meisten Patienten sterben an Herzversagen infolge einer respiratorischen Insuffizienz (95, 96). Klinisch fallen die Säuglinge typischerweise aufgrund der Muskelhypotonie durch das Bild eines „Floppy infant“ auf. Prominent sind neben der Kardiomegalie auch eine proximal betonte Muskelschwäche sowie die Beteiligung der Zwerchfell- und Atemhilfsmuskulatur. Des Weiteren zeigen sich meist eine Hepatomegalie, gelegentlich eine Splenomegalie und eine Makroglossie (14, 97).

Die ausgeprägte und schnell voranschreitende Muskelschwäche, vor allem der rumpfnahen Muskulatur, verursacht eine enorme Störung der motorischen Entwicklung und eine Bewegungsarmut. Neurologisch fallen unter anderem fehlende tiefe Sehnenreflexe auf (14, 92).

Die linksventrikuläre Hypertrophie geht mit einer Obstruktion des linksventrikulären Ausflusstraktes einher. Sie ist echokardiographisch sowie meist auch im Elektrokardiogramm und im Röntgen-Thorax Bild festzustellen (92, 98).

Die muskuläre Schwäche des Zwerchfells und der Atemhilfsmuskulatur verursacht eine respiratorische Insuffizienz und ein erhöhtes Risiko für rezidivierende Atemwegsinfektionen. Laborchemisch zeigen sich erhöhte Transaminasen inklusive einer erhöhten Laktatdehydrogenase und eine erhöhte Creatinkinase (14).

Durch die Verlängerung der Lebenserwartung unter Enzyzersatztherapie treten inzwischen Symptome auf, welche im natürlichen Verlauf der Erkrankung normalerweise nicht vorkommen. Bei einigen Patienten ließ sich im Verlauf eine Hörminderung feststellen, welche auf eine Beteiligung der Cochlea hindeutet (95).

Neben der klassisch infantilen Verlaufsform lässt sich ein nicht-klassisch infantiler Subtyp des Morbus Pompe differenzieren. Dieser ist seltener, geht aber mit einer günstigeren Prognose und einer deutlich mildereren kardialen Beteiligung einher. Im Unterschied zur klassischen Verlaufsform lassen sich meist höhere Aktivitäten der α -Glukosidase messen (98). Die charakteristischen Symptome der klassisch infantilen Verlaufsform, wie eine retardierte motorische Entwicklung oder eine Hepatomegalie werden auch bei Patienten mit einer nicht-klassischen Form beobachtet (99).

3.5.2. Late-onset Morbus Pompe

Die Abwesenheit einer hypertrophen Kardiomyopathie und ein langsamerer Progress der Erkrankung kennzeichnen die nicht-klassische Verlaufsform des Morbus Pompe („late-onset Pompe disease“, LOPD).

Bei fast allen Patienten zeigt sich im Verlauf typischerweise eine Schwäche der stammnahen Muskulatur des Bewegungsapparates und das Auftreten einer respiratorischen Insuffizienz (99). Die Lebenserwartung wird hauptsächlich durch die Einschränkungen der respiratorischen Funktion bedingt. Diese hängt in der Regel vom Alter bei Erstsymptomatik und von der Progressionsgeschwindigkeit der Erkrankung ab. Beispielsweise impliziert eine frühe Manifestation der Krankheit eine frühere

Abhängigkeit von Rollstuhl oder Beatmungsgerät (99). Da sich der Krankheitsverlauf sehr variabel darstellt, kann der Tod entsprechend zwischen früher Kindheit und Senium eintreten (13).

Die „late-onset“ Verlaufsform lässt sich in einen juvenilen und einen adulten Subtyp unterteilen. Die klinische Differenzierung ist fließend und bezieht sich auf das Alter bei Auftreten der ersten Symptome. Bei der juvenilen Verlaufsform stellen sich diese in der Regel nach dem ersten Lebensjahr und innerhalb der ersten Lebensdekade dar. Die ersten klinischen Symptome der adulten Verlaufsformen treten im Schnitt um das 30. Lebensjahr auf (15).

Das multisystemische Krankheitsbild zeigt einen sehr individuellen zeitlichen Verlauf und eine äußerst variable Beteiligung der unterschiedlichen Organsysteme.

Die sich initial zeigenden Symptome stehen häufig in Zusammenhang mit einer Schwäche der proximalen Extremitätenmuskulatur und dadurch bedingter Mobilitätsstörung. Klinisch fallen die meisten Patienten durch eine belastungsabhängige Schwäche der Muskulatur des Beckengürtels sowie der paravertebralen Muskulatur und eine reduzierte allgemeine Leistungsfähigkeit auf (13, 15). Die große Mehrheit der Patienten wird durch Probleme beim Gehen, Treppensteigen, Aufstehen von einem Stuhl oder bei sportlicher Aktivität auf ihre Erkrankung aufmerksam (90, 100). Diese Symptome gehen oft mit einer Belastungsintoleranz wie Müdigkeit, Muskelkrämpfen oder Myalgien einher (90, 101). Die auftretende Muskelschwäche der Extremitäten betrifft besonders die Hüftmuskulatur. Zu Beginn fällt häufig eine Hyperlordose oder ein Watschelgang auf. Die Fehlbelastung des Skelettes führt oft zu Deformitäten im Sinne einer Kyphose, Hyperlordose, Skoliose oder Scapula alata. Zudem tritt eine verringerte sportliche Belastbarkeit auf (90, 99, 100).

Des Weiteren kann sich auch eine lokale Pseudohypertrophie der Muskulatur, welche durch entsprechende Glykogenakkumulation verursacht wird, darstellen (13).

Eine Beteiligung der Schultermuskulatur ist meist bereits in frühen Stadien nachweisbar, jedoch im Verlauf insgesamt schwächer ausgeprägt. Auch die autochthone Rückenmuskulatur und die Abdominalmuskulatur sind häufig stark beteiligt. Hingegen bleibt die distale Extremitätenmuskulatur auch im fortgeschrittenen Krankheitsverlauf kaum betroffen (38, 100).

Die Progredienz der Muskelschwäche bedingt eine immer weiter voranschreitende Immobilisierung, welche bis zum vollständigen Verlust der Geh- und Stehfähigkeit führt (90).

In einem Drittel der Fälle gehören respiratorische Störungen zu den Erstsymptomen. In manchen Fällen können sich diese auch vor dem Eintreten einer Schwäche des Bewegungsapparates bemerkbar machen (100-102).

Bei zwei Drittel der Patienten kommt es im Verlauf zu einer progredienten Verschlechterung der respiratorischen Muskulatur, insbesondere des Diaphragmas und der Interkostalmuskulatur. Dies bedingt eine Verminderung des Atemzugvolumens, zu Beginn in liegender und später auch in aufrechter Position (13, 14, 38, 103). Hieraus resultieren eine Reduktion der Vitalkapazität und nächtliche Hypoventilationen. Im weiteren Voranschreiten der Erkrankung kann es auch im Wachzustand zu einer respiratorischen Insuffizienz kommen und hierdurch zu einem Cor pulmonale (104). Das pulmonale Defizit führt zu Infekten der Atemwege, die lebensgefährlich werden können (13, 15, 93, 104).

Die meisten Patienten mit juveniler Verlaufsform benötigen vor dem Erreichen des 20. Lebensjahres eine maschinelle respiratorische Unterstützung (13, 15).

Auch wenn eine kardiale Beteiligung bei Patienten mit einer „late-onset“ Verlaufsform selten ist und eine hypertrophe Kardiomyopathie in der Regel nicht auftritt, zeigen sich dennoch im Rahmen von elektrokardiographischen Untersuchungen gehäuft Veränderung mit kurzem PR-Intervall, großen QRS-Komplexen oder Arrhythmien aufgrund eines Wolff-Parkinson-White-Syndroms (101, 105).

Mit zunehmendem Alter bei Erstmanifestation sinkt die Wahrscheinlichkeit einer Kardiomegalie. Patienten mit ersten klinischen Symptomen vor dem zweiten Lebensjahr zeigen noch in ca. 80% der Fälle eine Hypertrophie des Herzens auf, wohingegen sich bei Krankheitsbeginn nach dem zweiten Lebensjahr praktisch keine offensichtlichen kardialen Manifestationen mehr darstellen (13).

Neben der Beeinträchtigung der quergestreiften Muskulatur kann es auch zu einer Schädigung der glatten Muskulatur kommen. Diese ist insbesondere für die gehäufte Entstehung von Aneurysmen der Ateria basilaris oder carotis interna und einer dilatativen Arteriopathie bei Patienten mit „late-onset“ Verlaufsform verantwortlich. Die

Funktionsweise der Gefäßwände scheint durch die glykogengefüllten Vakuolen eingeschränkt zu werden (99, 106-112).

Abgesehen von einer Beeinträchtigung der muskulären und respiratorischen Funktion kommt es mit zunehmender Schwäche der Muskulatur zur Abnahme oder zum kompletten Ausbleiben der tiefen Sehnenreflexe (99).

3.6. Diagnostik

Die Diagnosestellung ist aufgrund der Heterogenität der Erkrankung und des milden Verlaufs bei Patienten mit LOPD oft kompliziert und langwierig. Vom Auftreten der ersten Symptome bis zur endgültigen Diagnosestellung vergehen durchschnittlich sechs Jahre (13, 15). Die Mehrzahl der im höheren Alter diagnostizierten Patienten hatte bereits in der Kindheit muskuläre Symptome (13, 90, 100).

Die Herausforderung besteht darin, die Erkrankung als mögliche Differentialdiagnose überhaupt in Erwägung zu ziehen, da die vielen unspezifischen Symptome eine klare Abgrenzung zu anderen Erkrankungen erschweren. Zur Erleichterung einer möglichst schnellen Diagnosefindung wurden verschiedene Algorithmen erstellt, die sowohl klinische als auch laborchemische Untersuchungen berücksichtigen (6). Problematisch ist, dass die meist lange Zeit bis zur Diagnosestellung, die für den weiteren Verlauf essenzielle Einleitung einer Enzyersatztherapie verzögert. Erste Anhaltspunkte für den Verdacht einer Myopathie lassen sich mit Hilfe von Tests zur Objektivierung der Muskelkraft, wie zum Beispiel der Skala des Medical Research Council (MRC), dem Sechs-Minuten-Gehtest oder dem Vier-Stufen-Steigtest aufzeigen. Für die Diagnosestellung stehen neben klinischer Untersuchung und Anamnese die laborchemische Analyse, die Gelelektrophorese, bildgebende Verfahren und schließlich die Genanalyse zur Verfügung (113).

In Hinblick auf biochemische Laborparameter stellt die Serum-Creatinkinase (CK) einen sensitiven, jedoch nicht spezifischen Parameter dar. Bei adulten Patienten liegt zu 95% eine Erhöhung der CK-Werte vor. Die klassisch infantile Verlaufsform weist mit bis zu 2000 U/L im Vergleich die höchsten Messwerte auf. Häufig ist zusätzlich eine Erhöhung der Laktatdehydrogenase und der Aspartat- bzw. Alanin-

Aminotransferase zu beobachten (6, 114). Diese Veränderungen lassen sich in über 90% der Fälle bei LOPD Patienten beschreiben (99). Bei noch fehlender klinischer Manifestation können Erhöhungen dieser Laborparameter hinweisend sein (6, 114, 115). Sie sind jedoch nicht spezifisch. Im Urin kann der Nachweis von Glukose Tetrasaccharid (Glc4) einen Hinweis auf eine bestehende GSD II geben (116). Es zeigte sich bei Patienten mit IOPD unter Enzyersatztherapie eine enge Korrelation zwischen der Glc4-Konzentration und dem Umfang der Glykogenansammlung in der Skelettmuskulatur (117, 118).

Bei Patienten mit IOPD ist die Diagnose der Kardiomegalie häufig wegweisend. Diese lässt sich mittels Röntgen-Thorax oder im Herzultraschall darstellen. Elektrokardiographisch zeigen sich in diesem Fall typischerweise kurze PR-Intervalle und sehr hohe QRS-Komplexe (6).

Anhand der Lungenfunktionsdiagnostik kann eine mögliche respiratorische Komponente beurteilt werden. Eine Schwäche des Zwerchfells stellt sich meist durch einen Rückgang der Vitalkapazität von mehr als 25% nach Wechsel der Körperhaltung aus der aufrechten in die Rückenlage dar (119).

Mit Hilfe von elektromyographischen Untersuchungen (EMG) können häufig pathologische Spontanaktivitäten und myopathische Entladungsmuster aufgezeigt werden (101).

Die Erkrankung wird durch den Nachweis einer fehlenden oder deutlich reduzierten GAA-Aktivität bestätigt. Für die Ermittlung der Restenzymaktivität können kultivierte Fibroblasten aus Haut- oder Muskelbiopsien, Lymphozyten oder Trockenblut herangezogen werden. Die Aktivität wird mittels Assay bei einem sauren pH-Wert durchgeführt und mit der Aktivität von neutraler Glukosidase bei einem pH-Wert von 7,0 verglichen (6). Die Messung der GAA-Aktivität aus Hautfibroblasten war lange Zeit der Goldstandard, diese hat jedoch den Nachteil eines hohen Zeitaufwandes. Die gewonnenen Fibroblasten müssen vor Bestimmung der Enzymaktivität für mindestens vier Wochen kultiviert werden. Die Analyse aus Muskelgewebe ist zwar invasiver, ermöglicht aber eine direkte und schnelle Bestimmung der α -Glukosidaseaktivität und des Glykogengehalts. Außerdem erlaubt sie die differentialdiagnostisch infrage kommenden Erkrankungen histologisch abzuklären (6, 15, 120). Aufgrund der Invasivität der Muskelbiopsie und der hierfür meist benötigten Anästhesie kann diese besonders bei Patienten mit IOPD mit Komplikationen einhergehen (121).

Zur Aktivitätsbestimmung der α -Glukosidase hat sich heutzutage die Messung aus Blutproben mittels „dried blood spot“ (DBS) Test durchgesetzt. Diese ist weniger

invasiv, schneller und einfacher zu standardisieren. Dabei wird eine kleine Menge Blut auf acarbosehaltiges Filterpapier gegeben und die GAA-Aktivität mittels Fluorometrie bestimmt. Dieses Verfahren eignet sich auch für die Anwendung im Rahmen des Neugeborenen-Screenings (120, 122).

Die Aktivität bei Patienten mit klassisch infantilem Typ unterscheidet sich für gewöhnlich von derjenigen bei Patienten mit LOPD. Normalerweise beträgt sie bei der klassisch infantilen Verlaufsform weniger als 1% des Mittelwertes. Bei Patienten mit „late-onset“ Verlaufsform zeigt sich meist eine Aktivität von 2 - 40%, jedoch wurde auch bei diesen Patienten bereits von einer GAA-Aktivität unter 1% berichtet (6).

Die Verteilung der fettigen Muskeldegeneration lässt sich mittels MRT und CT darstellen. Als nicht invasive Methoden sind diese besonders hilfreich und können auch zur weiteren differentialdiagnostischen Abklärung beitragen. Die MRT ist hier als strahlenfreies Verfahren zu bevorzugen (123-125).

Für die endgültige Diagnosestellung muss die krankheitsverursachende Genmutation durch eine DNA-Analyse abgeklärt werden. Sie ist routinemäßig verfügbar und gibt zusätzlich Auskunft über den Genotyp und den möglichen Phänotyp. Das Vorhandensein von zwei pathologischen Mutationen der α -Glukosidase wird als verifizierend angesehen, wenn jeweils eine Mutation auf beiden Chromosomensträngen vorkommt (120).

Pränatal besteht die Möglichkeit einer GAA-Aktivitätsbestimmung in nicht kultivierten Chorionzellen. Auch eine Bestimmung der GAA-Aktivität in Amnionzellen ist möglich, stellt sich aber meist vermindert dar. Zur pränatalen Diagnostik eignet sich auch, falls beide krankheitsverursachenden Genmutationen in der Familie bekannt sind, eine Genanalyse (6, 126). Die Bedeutung des Neugeborenen-Screenings auf einen GAA-Defekt wird momentan in Studien zusammen mit dem Screening auf andere Speicherkrankheiten untersucht. Vor dem Hintergrund einer möglichen Enzyersatztherapie verbessern sich durch eine im Bedarfsfall frühere Therapieeinleitung die Chancen auf einen positiveren Verlauf (21, 127, 128).

3.7. Differentialdiagnose

Die Differentialdiagnose des Morbus Pompe hängt stark vom Alter, in dem die ersten Symptome auftreten, ab. Der GAA-Mangel unterscheidet sich differentialdiagnostisch normalerweise von anderen Störungen durch das Vorhandensein einer Erhöhung der Creatinkinase und der Abwesenheit anderer metabolischer Veränderungen, wie zum Beispiel einer Hyperglykämie, Laktatazidose oder metabolischen Azidose.

Differentialdiagnostisch kommen für die klassisch infantile Form bei vorhandener kardialer Hypertrophie folgende Erkrankungen in Frage (14):

Danon-Erkrankung: Diese ist eine X-chromosomal vererbte Stoffwechselerkrankung, bei der es durch eine Punktmutation des lysosomal assoziierten Membranprotein 2 (LAMP-2) Gens zu einem Mangel an LAMP-2 kommt. Erkrankte zeigen ebenfalls eine hypertrophe Kardiomyopathie, Muskelschwäche, Hypotonie und mentale Retardierung.

Fettsäureoxidationsstörungen: Erkrankungen wie der Long-chain-3-Hydroxy-Acyl-CoA-Dehydrogenase-Mangel (LCHAD), der Very-long-chain-Acyl-CoA-Dehydrogenase-Mangel (VLCAD), ein Defekt des mitochondrialen trifunktionalen Proteins (MTP), der primäre systemische Carnitinmangel (Carnitin-Transporter-Defekt), der Carnitin/Acylcarnitin-Translocase-Mangel (CACT) und der Carnitin-Palmitoyl-Transferase II-Mangel (CPT-II) können sich bei Neugeborenen mit hypertropher Kardiomyopathie und nicht-ketonischer Hyperglykämie symptomatisch ähnlich präsentieren.

Des Weiteren können sich Störungen der Mitochondrien und der Atmungskette in Form von Hypotonie, Kardiomyopathie, Hepatomegalie und Krampfanfällen äußern. Außerdem kommen infantile Formen der Hypotonie ohne Kardiomyopathie in Betracht, wie die spinale Muskelatrophie Typ I und die Glukosespeicherkrankheit Typ IIIa. Bei anderen kongenitalen Myopathien kann die Kardiomyopathie oft fehlen, daher kommen sie normalerweise nicht als Differentialdiagnose des klassisch infantilen Morbus Pompe in Betracht.

Die Differentialdiagnose der LOPD stellen alle Erkrankungen dar, die sich mit einer Hypotonie oder einer muskulären Schwäche äußern. In Frage kommen vor allem: Morbus McArdle (GSD Typ V) und Amylopektinose (GSD Typ IV, Morbus Andersen), muskuläre Dystrophien wie die Muskeldystrophie Duchenne und Gliedergürteldystrophie (LGMD) (14).

3.8. Enzyersatztherapie

Die kausale Therapie des Morbus Pompe ist die Enzyersatztherapie mit α -Glukosidase. Die Standarddosierung sind 20 mg/kg Körpergewicht, welche alle zwei Wochen intravenös appliziert wird. Die Dosis kann bei Patienten mit einer schwachen Reaktion auf die initiale Dosis auf bis zu 20 mg/kg Körpergewicht (KG) jede Woche oder 40 mg/kg KG alle zwei Wochen erhöht werden. Höhere Dosen sind momentan noch Gegenstand der Forschung (129, 130).

Die Enzyersatztherapie wurde vor allem an Patienten mit klassisch infantiler und damit sehr rapide fortschreitender Form des Morbus Pompe untersucht und zuerst für diese zugelassen. Zu Patienten mit der „late-onset“ Form und einem langsameren Verlauf gibt es hierzu bisher nur wenige Daten und Langzeitergebnisse.

Die Enzyersatztherapie mit rekombinanter humaner α -Glukosidase (rhGAA), welche aus chinesischen Hamsteroarzellen hergestellt wird, wurde durch die US Food and Drug Administration (FDA) im Jahr 2006 für die Verwendung bei Patienten mit klassisch infantiler Form von Morbus Pompe zugelassen.

Eine zweite rekombinante α -Glukosidase wurde von der FDA 2010 für die „late-onset“ Form genehmigt. Diese wird aus der gleichen Zellreihe hergestellt, hat aber ein größeres bioreaktives Potential. Die Zulassung wurde im Jahr 2014 auf alle Altersklassen erweitert.

Es gibt verschiedene Studien über Patienten mit klassisch infantilem Morbus Pompe, die unter ERT eine kurz- und langfristige Verbesserung der kardialen und muskulären Funktion, der Abhängigkeit von Atemunterstützung und Überleben gezeigt haben.

In einer Studie vor Zulassung der rekombinanten humanen α -Glukosidase wurden 18 Patienten, die an der klassisch infantilen Form des Morbus Pompe erkrankt waren, mit 20 mg/kg Körpergewicht (KG) oder 40 mg/kg KG alle zwei Wochen behandelt. Alle 18

Patienten überlebten 18 Monate (56). In einer Ausweitung der Studie wurden 16 dieser Patienten bis zu drei Jahre weiter behandelt. Über den gesamten Verlauf dieser Folgestudie konnte die Enzyersatztherapie, im Vergleich zu historischen Kontrollen, das Todesrisiko um 95% und das Risiko für die Notwendigkeit einer Atemunterstützung um 91% senken. Zudem wurde eine Verbesserung der Kardiomyopathie und der motorischen Fertigkeiten festgestellt (131).

In einer weiteren Studie wurden 21 Patienten im Alter von drei Monaten bis dreieinhalb Jahren mit 20 mg/kg KG jede zweite Woche über einen Zeitraum von 168 Wochen behandelt. Die Behandlung brachte eine Reduktion des Todesrisikos von 79%, sowie eine Verringerung der invasiven Beatmung um 58%, eine Verbesserung oder Stabilisierung des linksventrikulären Auswurftraktes und eine Verbesserung der motorischen Fertigkeiten (132).

Ein möglichst früher Beginn der ERT scheint besonders vorteilhaft zu sein. Ein Fallbericht eines Neugeborenen bei dem bereits 18 Stunden nach Geburt mit der Enzyersatztherapie begonnen wurde, zeigte nach 21 Wochen eine Normalisierung der kardialen Veränderungen und nach 46 Wochen eine Normalisierung der neurologischen Entwicklung (133).

Auch eine andere Studie lässt vermuten, dass ein sehr früher Beginn der ERT einen positiven Effekt hat. Es wurden 13 Neugeborene untersucht, die im Rahmen eines nationalen Screening-Programms mit Morbus Pompe diagnostiziert worden waren. Der durchschnittliche Therapiebeginn lag bei zwölf Tagen. Die linksventrikuläre Funktion verbesserte sich nach drei bis vier Monaten. Alle Patienten hatten ein Jahr nach Beginn der Therapie eine normale kognitive und motorische Entwicklung. Das mittlere Alter zum Zeitpunkt des ersten selbständigen Laufens war mit 11,9 Monaten altersgemäß (134).

In einer Langzeitstudie, von bis zu zwölf Jahren, an 17 Patienten mit „early-onset“ Morbus Pompe unter ERT konnte eine Verbesserung der Herzfunktion innerhalb von fünf Monaten nach Beginn der Therapie demonstriert werden. Allerdings war es nicht möglich das Auftreten von Arrhythmien, wie beispielsweise Wolff-Parkinson-White (WPW), zu verhindern. Außerdem berichten die Autoren von einer Verbesserung der grobmotorischen Fähigkeiten, jedoch bestanden weiterhin Muskelschwäche und Kontrakturen, Dysphagie und Aspirationsgefahr, Rhinophasie sowie Osteopenien (135).

Die intravenöse Enzyersatztherapie mit rekombinanter α -Glukosidase hat auch bei der adulten Form des Morbus Pompe Wirksamkeit gezeigt (4, 58, 136-139).

In einer multizentrischen Studie wurden 90 Patienten im Alter zwischen zehn und 70 Jahren eingeschlossen und randomisiert im Verhältnis 2:1 alle zwei Wochen intravenös mit α -Glukosidase (20 mg/kg KG) oder Placebo über einen Zeitraum von 18 Monaten behandelt. Bei den mit α -Glukosidase behandelten Patienten konnte eine Verbesserung der Gehstrecke und der Lungenfunktion beobachtet werden, während diese Fertigkeiten in der Placebo-Gruppe weiter zurückgingen. Der Behandlungseffekt betrug 28,1 m beim im Sechs-Minuten-Gehtest und 3,4% Unterschied bei der FVC (4). Die Studie konnte keine signifikanten Veränderungen des kardiovaskulären Status im Zusammenhang mit der Enzyersatztherapie belegen (140).

In einer open-label-Studie mit vier erwachsenen Patienten im Alter von 39 bis 68 Jahren, die sechs Monate mit einer Enzyersatztherapie behandelt wurden, zeigte sich eine Verbesserung der Laborwerte, wie der Creatinkinase und der Transaminasen (139).

Auch im Rahmen von Langzeitstudien ließ sich eine Wirksamkeit der ERT bei Patienten mit LOPD bestätigen (141, 142). In einer Studie über zehn Jahre profitierten 93% der Patienten initial nach Einleitung der ERT. Es zeigte sich jedoch bei vielen Patienten nach drei bis fünf Jahren eine sekundäre Verschlechterung der Gehfähigkeit, der Muskelkraft und/oder der Lungenfunktion. Zehn Jahre nach Therapiebeginn hatten 52% der Patienten einen besseren oder gleich guten Sechs-Minuten-Gehtest und/oder FVC, im Vergleich zur initialen Untersuchung. Die Autoren beschrieben zudem beträchtliche individuelle Variationen zwischen den Patienten (141). Auch andere Studien, über einen Verlauf von bis zu 5 Jahren, beschrieben ebenfalls eine Wirkung der ERT, welche nach zwei bis drei Jahren ihren Höhepunkt erreichte. Anschließend stellte sich ebenfalls ein Plateau oder ein sekundärer Rückgang ein (113, 143-146). Die internationale Pompe Umfrage („International Pompe Survey“) hat einen positiven Effekt der ERT auf das Fatigue-Syndrom, die Lebensqualität und die Partizipation am täglichen Leben bei Patienten mit LOPD festgestellt (145, 147).

Grundsätzlich besteht das Ziel der ERT bei lysosomalen Speicherkrankheiten darin, die reduzierte Enzymaktivität durch kontinuierliche Gabe von funktionstüchtigen Enzymen zu ersetzen. Dabei gelten besondere Anforderungen an die Sicherheit, die Wirksamkeit und die Spezies-Spezifität. Die verabreichten Enzyme müssen stabil sein,

katalytisch aktiv bleiben und dürfen keine Immunantwort auslösen. Die zwei aktuell verfügbaren Enzyme sind rekombinant hergestellte humane GAA aus der Milch transgener Kaninchen oder den Eierstockzellen des chinesischen Hamsters (45).

Obwohl die ERT mit rhGAAC derzeit die Standardbehandlungsmodalität und die einzige klinisch verfügbare Therapie darstellt, gibt es einige Nachteile. Die Produktion ist mit hohen Kosten verbunden und die Anwendung erfordert lebenslang notwendige intravenöse Infusionen, welche häufig eine Immunantwort induzieren. Außerdem geht ein Großteil des Enzyms, mehr als 80%, verloren, da es nicht gezielt auf das betroffene Gewebe ausgerichtet ist. Ein weiteres Problem besteht in der geringen Wirksamkeit, die auf eine Dysregulation des autophagen Pfades zurückzuführen ist (45).

Weitere Faktoren, welche Einfluss auf die Wirksamkeit der Behandlung haben, sind unter anderem der Gehalt an Mannose-6-Phosphat-Gruppen des rekombinanten Enzyms, die unterschiedliche Anzahl von M6P/Insulin-like Wachstumsfaktor-II-Rezeptoren, die auf der Muskelzelloberfläche exprimiert werden, und die Menge an autophagen Ablagerungen, die den ordnungsgemäßen intrazellulären Transport des Enzyms behindern (141).

Der Erfolg der Therapie wird bei klassisch infantilem Morbus Pompe, jedoch nicht bei der „late-onset“ Verlaufsform, auch durch den CRIM-Status beeinflusst. Das Vorhandensein oder Fehlen von kreuzreaktivem immunologischem Material (CRIM) kann sich auf die Prognose auswirken. Patienten mit zwei defekten GAA-Mutationen, die völlig unfähig sind, ein natives Enzym zu bilden, sind CRIM-negativ. Patienten mit dem Rest eines funktionierenden oder nicht funktionierenden Enzyms sind CRIM-positiv. Es zeigte sich, dass CRIM-negative Patienten früher und auch insgesamt höhere IgG-Antikörpertiter entwickeln. Die Wirkung des CRIM-Status auf das Ergebnis scheint durch Antikörperreaktionen auf das exogene Protein vermittelt zu werden (148-150).

Hilfreich für die Koordinierung der optimalen Betreuung ist ein multidisziplinäres Behandlungsteam mit Unterstützung durch Physiotherapie und Rehabilitation, Kardiologie, Pneumologie, Orthopädie, Ernährungswissenschaft, Beschäftigungs- und Sprachtherapie. Viele Patienten benötigen im Verlauf der Erkrankung eine Atemunterstützung. Durch eine nichtinvasive Beatmung während des Schlafens kann

bei Patienten mit LOPD eine nächtliche Hypoxie und tagsüber eine Hyperkapnie vermieden werden (151, 152).

Zu den möglichen Nebenwirkungen der α -Glukosidase Infusion gehören schwere Überempfindlichkeitsreaktionen, akutes kardiorespiratorisches Versagen und eine mögliche Infusionsreaktion. Außerdem entwickelte die Mehrzahl der Patienten Antikörper gegen die rh α -Glukosidase (56, 131, 132).

3.8.1. Experimentelle Therapieansätze

Alternative kausale Therapieoptionen zur ERT, welche aktuell die einzige klinisch verfügbare Therapie des Morbus Pompe ist, sind momentan noch Gegenstand experimenteller Forschung. Eine zukünftig vielversprechende Option ist die Gentherapie. Das Ziel hierbei ist die Bereitstellung einer kontinuierlichen internen Enzymquelle (45). Einige Mausmodelle haben bereits aussichtsreiche Ergebnisse gezeigt (153-156).

Unabhängig von möglichen medikamentösen Therapieansätzen scheinen Bewegungstherapien ebenfalls einen positiven Einfluss zu haben. Eine Fallserie von drei Patienten (zwei Erwachsene und ein Kind) berichtet von einer positiven Reaktion nach einer gewissen Zeit inspiratorischer Muskelstärkungsübungen, die tagsüber zu einer Reduzierung der benötigten Atmungsunterstützung führte (157).

Eine proteinreiche und kohlenhydratarme Diät, die in Verbindung mit einer Bewegungstherapie bei Erkrankten mit der adulten Form des Morbus Pompe eingesetzt wurde, konnte die Verschlechterung der Muskelfunktion verlangsamen, ohne jedoch Veränderungen der Lungenfunktion oder der Creatinkinase zu bewirken. Bei dieser Studie gab es jedoch erhebliche Sicherheitsbedenken, vor allem in Bezug auf übermäßigen Gewichtsverlust und die Einhaltung der Ernährungsrichtlinien (158).

4. Literaturdiskussion Radiologie

Die moderne Behandlung von Patienten mit LOPD umfasst, wie bereits beschrieben, die Enzyersatztherapie unter Verwendung von rekombinanter α -Glukosidase, die die Muskeldegeneration aufhalten oder verzögern kann (4, 159). Die Wirksamkeit dieser Behandlung wird in erster Linie durch klinische Krafttests oder Lungenfunktionstests überwacht (4). Der Nutzen dieser Enzyersatztherapie ist bei erwachsenen Patienten aufgrund des langsamen Progresses häufig schwer eindeutig nachzuweisen (145).

Die Fettinfiltration der Muskulatur bei Muskeldystrophien ist ein hilfreicher Marker für das Fortschreiten und die Schwere des Krankheitsprozesses (160). Der Anteil an Fett in einem chronisch erkrankten Muskel gibt Auskunft über die Dimension der strukturellen Veränderungen (11).

Informationen über Veränderungen in der Muskelzusammensetzung waren bisher hauptsächlich auf die histologische Untersuchung von Biopsieproben reduziert.

Die Muskelbiopsie ist für diagnostische Zwecke von großem Wert, da sie eine Analyse der Muskelfasertypen sowie biochemische und immunhistochemische Untersuchungen ermöglicht. Allerdings sind Biopsien invasiv und nicht repräsentativ für die Reaktion des gesamten Muskels, bzw. anderer Muskeln. Informationen zur Muskelzusammensetzung beschränken sich nur auf die Stelle der Probennahme (160).

Die „late-onset“ Form des Morbus Pompe ist, wie bereits beschrieben, meist eine langsam progrediente Muskeldystrophie (11). Der Krankheitsprogress lässt sich daher mittels klinischer Untersuchungen im Rahmen der Verlaufskontrollen häufig nicht exakt erkennen und präzise bewerten. Ausnahme sind die wenigen Patienten, die einen dramatisch, beschleunigten klinischen Verlauf aufweisen (11).

Dementsprechend sind wiederholte Untersuchungen zur Re-Evaluation der Progressgeschwindigkeit von großer Bedeutung, um die Therapie ideal an die Bedürfnisse der Patienten anpassen zu können.

Vor allem durch die neuen Therapiemöglichkeiten besteht ein Bedarf an nicht-invasiven Untersuchungsmethoden zur Darstellung von Veränderungen in der Zusammensetzung der Muskeln im Verlauf der Krankheit bzw. unter Therapie. Besonders im Rahmen der Folgeuntersuchungen hat die nicht-invasive Bildgebung ein großes Potential, eine objektivere und genauere klinische Beurteilung der Muskeln zu liefern und klinisch stille Veränderungen in der Muskulatur aufzuzeigen (125).

Die Magnetresonanztomographie (MRT) hat sich in den letzten zwei Jahrzehnten zu einem wichtigen nicht-invasiven Instrument zur Untersuchung der Muskelstruktur und -zusammensetzung entwickelt und wurde beispielsweise erfolgreich zur Untersuchung des Krankheitsverlaufs bei Kindern mit Duchenne-Muskeldystrophie (DMD) eingesetzt (11, 161).

Zur radiologischen Untersuchung von Muskeln eignen sich grundsätzlich diverse Techniken. Diese unterscheiden sich in ihrer Ortsauflösung, Strahlenbelastung, Objektivität, Dauer der Untersuchung und Verfügbarkeit. Bildgebende Verfahren wie Ultraschall, Computertomographie (CT) und MRT ermöglichen die in vivo-Beurteilung der unteren Rückenmuskulatur (162).

Die Ultraschalluntersuchung ist eine günstige, leicht durchzuführende und weit verbreitete Methode, mit welcher ohne ionisierende Strahlung die meisten oberflächlichen Muskeln beurteilt werden können. Allerdings ist diese Technik untersucherabhängig und erlaubt jeweils nur die Evaluation eines eingeschränkten Bereichs. Aus diesen Gründen ist sie für Verlaufsuntersuchungen nur bedingt geeignet (163).

Mit Hilfe der CT ist es möglich, Weichgewebe und somit auch Muskeln mit hoher Auflösung abzubilden. In verschiedenen Studien wurden die muskuläre Beteiligung und das Verteilungsmuster bei Patienten mit Morbus Pompe mittels CT bereits untersucht (72, 164-166). Auch im Rahmen anderer neurologischer Muskelerkrankungen wurde eine gute Korrelation zwischen dem Grad der CT-Veränderungen und der klinischen Beurteilung der Muskeln beobachtet. Die CT erlaubt darüber hinaus eine genaue Untersuchung von Anomalien klinisch schwer zu beurteilender Muskeln und ist bei der Analyse der Topographie und der Selektivität pathologischer Prozesse hilfreich (164).

Die CT erlaubt eine Untersuchung aller Muskelgruppen und ist untersucherunabhängig. Jedoch bringt sie den Nachteil einer signifikanten Strahlenbelastung mit sich, weshalb häufige Kontrolluntersuchungen, vor allem bei jüngeren Patienten, vermieden werden sollten. Der Vorteil gegenüber einer MRT ist die deutlich kürzere Untersuchungszeit (163).

Die MRT ist heutzutage eine leicht zugängliche Technik, die eine umfassende Analyse der verschiedenen Ebenen jedes Muskels ermöglicht und im Gegensatz zur CT keine ionisierende Strahlung verwendet (167). Die MRT hat im Vergleich zur CT ein besseres Auflösungsvermögen bei der Beurteilung von Weichteilgewebe, einschließlich Muskel- und Fettgewebe (168).

4.1. Grundlagen der Magnetresonanztomographie

Mit Hilfe der MRT lassen sich die Strukturen der Gewebe und Organe des menschlichen Körpers darstellen. Dieses diagnostische Verfahren basiert auf den elektromagnetischen Eigenschaften der Wasserstoffkerne, die sich in organischen Verbindungen befinden. Die tomographischen Daten werden durch Magnetfelder und Hochfrequenzimpulse sowie der anschließenden Messung der entstandenen Magnetisierung erzeugt. Grundlage für den Bildkontrast sind die unterschiedlichen Relaxationszeiten der Wasserstoffkerne in Abhängigkeit von der jeweiligen Gewebeart. So entsteht durch die Analyse der Rohdaten die Berechnung eines Bildsignals in örtlicher Abhängigkeit in zweidimensionalen Schichten oder dreidimensionalen Volumina. Aufgrund des sehr guten Weichteilkontrastes der MRT lassen sich sowohl Anatomie als auch Pathologie abbilden. Ein großer Vorteil dieses Verfahrens liegt darin, im Gegensatz zur CT, ohne ionisierende Strahlung auszukommen (169).

Die MRT macht sich die besonderen Eigenschaften der Protonen zu Nutze. In normalem Zustand rotieren alle Wasserstoffkerne in zufälliger Ausrichtung. Diese Rotation wird als Spin bezeichnet. Dabei drehen sich die Wasserstoffatome sowohl um ihre eigene Achse als auch im Kreis. Diese Art der Bewegung wird Präzession genannt. Durch Anlegen eines äußeren Magnetfeldes werden die zuvor in unterschiedlicher Richtung rotierenden Protonen in der Achse des Magnetfeldes ausgerichtet, entweder parallel oder antiparallel. Dies wird als Längsmagnetisierung bezeichnet. Um die Protonen anzuregen wird in das zu untersuchende Gewebe zum Beispiel kurzzeitig ein 90° Radiofrequenz-Impuls eingestrahlt, der eine Quermagnetisierung erzeugt. Hierdurch wird der Summenvektor der Spins (in diesem Fall um 90°) aus seiner Achse gelenkt (170).

Die Relaxation beschreibt den Prozess, bei dem ein Spin die Energie, die er zuvor aus dem Impuls erhalten hat, wieder abgibt.

Die T1-Zeit bezeichnet die Dauer, in der die Längsmagnetisierung der Protonen eines Gewebes zu 63% wiederhergestellt ist. Sie hängt von der Art bzw. Zusammensetzung des Gewebes sowie von der Stärke des Magnetfeldes ab. Gewebe mit einer kürzeren T1-Zeit relaxieren schneller, wodurch sie nach einer wiederholten Anregung ein

starkes Signal hervorrufen. Dementsprechend erscheinen sie in T1-gewichteten Aufnahmen hyperintens (170).

Bei Gewebearten mit einer langen T1-Zeit sind zum selben Zeitpunkt weniger Protonen in die Längsmagnetisierung zurückgekehrt. Entsprechend stehen dann bei erneutem Impuls weniger Wasserstoffkerne für die Anregung zur Verfügung. Dies resultiert in einem schwächeren Signal im Vergleich zu Geweben mit kurzer T1-Zeit. Im T1-gewichteten Bild erscheint dieses Gewebe hypointens.

Eine kurze T1-Relaxationszeit hat zum Beispiel Fett. Wasser hingegen besitzt eine lange T1-Relaxationszeit. Je nach Gewebeart und Zeitpunkt der Messung ergibt sich eine Signaldifferenz zwischen den verschiedenen Gewebearten.

Die jeweilige Ausrichtung eines Spin-Vektors wird als Phase beschrieben. Während der Querrelaxation dephasieren die Wasserstoffatome und verlieren ihre ehemals gleiche Richtung. Dieser Effekt wird T2-Relaxation genannt. Die T2-Zeit wird nicht von der Magnetfeldstärke des MRT beeinflusst und hängt von der Art und Zusammensetzung des Gewebes ab. Fett weist eine kurze T2-Zeit ($\approx 80\text{ms}$ bei 1,5 Tesla) auf. Im Gegensatz dazu ist die T2-Zeit von Wasser lang (Liquor $\approx 2000\text{ms}$ bei 1,5 Tesla). Durch die unterschiedlichen Relaxationsformen und -zeiten erhält man entsprechend unterschiedliche Gewebekontrastierungen (170).

Da Fett einen längeren T2-Wert als der Muskel hat, wird es in T2-gewichteten MRT-Bildern mit hoher Signalintensität (SI) abgebildet (160).

Die T1-(longitudinale) Relaxation und T2-(transversale) Relaxation laufen unabhängig voneinander und gleichzeitig ab (171).

Ein sogenanntes MRT-Protokoll setzt sich aus einer Vielzahl von unterschiedlichen Pulssequenzen mit programmierten sich verändernden magnetischen Gradienten zusammen, welche das am Ende gemessene Signal bestimmen. Zu den für die Bildgebung entscheidenden Parametern zählt unter anderem die Echozeit (TE, „time to echo“). Sie beschreibt die Zeitspanne zwischen Anregung der Protonen und Messung des Signals. Die Echozeit bestimmt maßgeblich den T2-Kontrast der entstehenden Bilder und somit wie sehr diese T2-gewichtet sind (170). Die Repetitionszeit (TR, „time to repetition“) entspricht der Zeitspanne zwischen zwei aufeinanderfolgenden Anregungen derselben Schicht. Sie ist hauptverantwortlich für den T1-Kontrast. Durch eine längere Repetitionszeit haben die Wasserstoffprotonen mehr Zeit für die T1-Relaxation (170). Die Größe des gewählten Bildausschnittes

(„Field of View“, FoV) entscheidet über die räumliche Auflösung. Je kleiner das FoV, desto höher die räumliche Auflösung und desto kleiner das Signal-Rausch-Verhältnis (SNR, „Signal-to-Noise-Ratio“) (171). Bei T1-gewichteten Bildern wird der Kontrast überwiegend von T1 bestimmt. Hierfür wird eine kurze Repetitionszeit mit einer kurzen Echozeit kombiniert, um den T2-Einfluss gering zu halten. Bei T2-gewichteten Bildern wird dementsprechend der Kontrast über T2 bestimmt, weswegen eine lange Repetitionszeit sowie eine lange Echozeit gewählt wird, um den T1-Einfluss gering zu halten (170, 171). Eine Muskelverfettung, wie bei Morbus Pompe, zeigt sich sowohl in T1- als auch in T2-gewichteten Bildern als hyperintense Veränderung, wobei sich Fett in der T1-Wichtung im Vergleich zur T2-Wichtung stärker hyperintens abbildet (172).

Bei der Spin-Echo-Sequenz erfolgt die Anregung, wie zuvor beschrieben, mit einem schichtselektiven 90°-Radiofrequenz-Impuls. Anschließend wird nach der Hälfte der geplanten Echozeit (TE/2) ein entgegengesetzter Impuls in 180° gesetzt, der die Reihenfolge der Spins umkehrt. Hierdurch lässt sich eine sehr gute Bildqualität aufgrund einer Unempfindlichkeit gegenüber statischen Feldinhomogenitäten erzeugen. Ein Nachteil ist die lange Messzeit und eine dementsprechende Empfindlichkeit gegenüber Bewegungsartefakten.

Anstelle von Hochfrequenzimpulsen lassen sich die Spin-Vektoren auch durch schnelles Schalten von starken Gradienten mit Hilfe von Gradientenspulen in Bewegung setzen. Die Gradientenechosequenz (Fast-field-Echo) benötigt nicht den zeitintensiven 180°-Impuls und kommt mit einer sehr kurzen Repetitionszeit aus. Dies ermöglicht schnellere Bildaufnahmen und reduziert Bewegungsartefakte. Die kurzen Repetitionszeiten können sich jedoch nachteilig auf die Sättigung auswirken und diese vermindern.

Das Fast-Spin-Echo (Turbo-Spin-Echo) ist eine beschleunigte Variante der Spin-Echo-Sequenz. Durch eine Serie von 180°-Impulsen werden mehrere Echos erzeugt und die Bildaufnahmezeit deutlich reduziert. Dieses Verfahren vereint den Vorteil der hohen Bildqualität einer Spin-Echo-Sequenz mit einer annähernd so hohen Geschwindigkeit wie der einer Gradientenecho-Sequenz (171, 173).

Wie bereits beschrieben stellt sich Fett sowohl in T1- als auch in T2-gewichteten Bildern hyperintens dar. In der T2-Wichtung lässt sich daher ein Ödem, aufgrund des

Wassergehaltes ebenfalls hyperintens, schwer von Fettgewebe unterscheiden. Um die pathologischen Strukturen besser darstellen zu können, kann das Fettsignal unterdrückt werden. Dies lässt sich mittels Inversion Recovery (zum Beispiel STIR, FLAIR oder TIRM), frequenzselektiver und spektraler Sättigung oder der Dixon-Methode realisieren (170).

Die beschriebenen variablen Parameter ergeben eine Vielzahl von möglichen MRT-Sequenzen, woraus sich verschiedene MRT-Bilder mit jeweils unterschiedlichen Bildinformationen ergeben. Je nach klinischer Fragestellung sind die jeweils geeigneten und sinnvollen Sequenzen auszuwählen.

4.2. MRT Auswertungsmethoden

Die typischen Merkmale der Muskelatrophie sind ein verringertes Muskelvolumen und/oder eine erhöhte Infiltration der Muskeln durch Fett- und Bindegewebe. Beide Phänomene können mittels MRT gut untersucht werden (172).

Die Muskelatrophie geht normalerweise mit einer Abnahme der Querschnittsfläche (Cross-Sectional Area, CSA) bzw. der funktionellen Querschnittsfläche (Functional Cross-Sectional Area, FCSA) der Muskulatur einher (172, 174, 175). Diese stellt ein Maß für den Anteil funktioneller Muskelfasern an der Gesamtfläche dar.

Wie bereits erwähnt, tritt in den histologischen Untersuchungen im Verlauf des Morbus Pompe neben der Atrophie auch eine Verfettung der Muskulatur auf.

Diese Muskelverfettung zeigt sich sowohl in T1- als auch in T2-gewichteten Bildern als hyperintense Veränderung (172).

Auch im Rahmen anderer neurologischer und degenerativer Erkrankungsbilder stellt die MRT von Muskeln eine bedeutende Untersuchungsentität zum besseren Verständnis der Erkrankung dar. Beispielsweise wurde sie eingesetzt, um die Veränderungen der paraspinalen Muskeln von Patienten mit chronischen Rückenschmerzen oder Patienten, die eine längere Bettruhe einhalten mussten, zu dokumentieren (172). Die magnetresonanztomographische Untersuchung der

paravertebralen Muskulatur spielt auch bei der unilateralen lumbosakralen Radikulopathie mit HIVD („herniated intervertebral disc“) eine bedeutende Rolle. Variationen in der Querschnittsfläche des paraspinalen Muskels und dessen Zusammensetzung sind im Hinblick auf das Risiko von Rückenschmerzen und deren Genesung von Interesse (172, 176-178). Darüber hinaus wurde zur Beurteilung der Muskulatur bei neuromuskulären Erkrankungen bereits über den Einsatz der magnetresonanztomographischen Bildgebung als nützliche nicht-invasive Technik berichtet (167, 179-182).

Mehrere Studien in diesem Zusammenhang haben gezeigt, dass sowohl die Höhe der CSA als auch der FCSA eines Muskels einen Anhalt über degenerative Veränderungen geben. Die FCSA kann im Vergleich zur CSA zusätzlich eine Aussage über die Muskelzusammensetzung treffen und ist ein besserer Indikator für Muskelatrophie und Kontraktilität (183-185).

Zur Bestimmung der funktionellen Muskelmasse sind in der Literatur unterschiedliche Verfahren beschrieben, beispielweise ein manuelles auf Basis von Signalintensitäten oder ein teilautomatisiertes mittels Schwellentechnik.

4.2.1. Semi-quantitative Evaluation (Mercuri Score)

In der Vergangenheit wurden vor allem unterschiedliche optische Bewertungssysteme zur Beurteilung der Muskelzusammensetzung mittels MRT herangezogen, ohne eine quantitative Beurteilung der intramuskulären Morphologie vorzunehmen.

Mehrere Studien verwendeten eine visuelle Einteilung der Atrophie der lumbalen und paraspinalen Muskulatur durch die Untersucher in mild, mittelschwer und schwer (162, 178, 186) oder anhand der visuellen Vier-Punkte-Skala nach Lammine (180).

Das heute hauptsächlich verwendete semi-quantitative Verfahren, um die Degeneration von Fettmuskeln zu bewerten, ist das visuelle Vier-Punkte-Bewertungssystem (10) nach Mercuri et al. (9). Dieser Score wird visuell vom Radiologen angewendet und reicht von 1 (normale Zusammensetzung der Muskeln) bis 4 (schwere Beteiligung, mehr als 60% fettige Degeneration) (10). Die Summe der Mercuri Scores korreliert bei Patienten mit Morbus Pompe positiv mit den sich klinisch

darstellenden myopathischen Beschwerden, welche zum Beispiel mittels der MRC-Skala evaluiert wurden. Die Einteilung der Muskelatrophie nach Mercuri ist grundsätzlich ein zuverlässiges und hilfreiches Verfahren zur Beurteilung der Muskulatur und des Progresses der Muskeldegeneration (124, 167).

4.2.2. Quantitative Evaluation

Zur quantitativen Auswertung müssen die jeweiligen Muskeln zuerst manuell mit Hilfe einer Bildanalysesoftware segmentiert werden, um anschließend die MR-Signalintensitäten analysieren oder die unterschiedlichen Gewebetypen einem Graustufenbereich zuordnen zu können (162, 187-192).

Veränderungen der Muskulatur im Rahmen einer Dystrophie gehen meist mit der Abnahme des Muskelvolumens und damit einer Veränderung der CSA einher. Bei Patienten mit lumbalen Rückenschmerzen oder langer Bettruhe lässt sich zum Beispiel über die Veränderungen der CSA die Muskulatur im Verlauf beurteilen (184, 193).

In mehreren Studien, unter anderem auch bei degenerativen Erkrankungen der Wirbelsäule, erfolgte die Untersuchung der muskulären Veränderungen zusätzlich mittels Analyse der muskulären Signalintensitäten.

Die histogrammische Analyse der durchschnittlichen Signalintensitäten ist eine effektive Methode, um den Grad der Muskeldegeneration zu evaluieren (172, 176-178).

Diese gibt beispielsweise bei Patienten mit posterolateralem Bandscheibenvorfall einen Anhalt für die Fettinfiltration eines Muskels im Vergleich zur kontralateralen nicht betroffenen Seite (160, 176, 194).

Da sich die spezifischen Signalintensitätswerte der jeweiligen Gewebearten sowohl zwischen unterschiedlichen als auch innerhalb derselben MRT-Aufnahme, zum Beispiel aufgrund von Feldinhomogenitäten, unterscheiden, können sie ins Verhältnis zu den Signalintensitäten des umliegenden Fettgewebes gesetzt werden. Hierdurch werden die Messergebnisse von den unterschiedlichen Einflussfaktoren unabhängig und sind besser mit anderen Untersuchungen vergleichbar. Für die Bestimmung der Signalintensitätswerte von Fett eignet sich beispielsweise der Bereich des subkutanen Fettgewebes in derselben Bildebene. Die Messungen der mittleren

Signalintensitätswerte für Muskel und subkutanes Fett zeigten in mehreren Studien eine ausgezeichnete Intra- und Inter-Beobachter-Zuverlässigkeit (Intraklassenkoeffizient ICC = 0,86 bzw. 0,79 (172) sowie ICC = 0,88 bzw. 0,82 (195)).

Alternativ lassen sich Veränderungen der Muskulatur auch über eine Auswertung der mittleren Grauwerte beurteilen. Auf T1- und T2-gewichteten Bildern ist die Signalintensität des Skelettmuskels deutlich geringer als die des Fettgewebes. Der Grauwert von Pixeln ist ein einheitsfreier Parameter, der von der Helligkeit abhängt. Eine Zunahme der mittleren Grauwerte des Muskelgewebes korreliert mit einer Zunahme des Fettersatzes (12). Nachteil von Graustufenanalysen im Gegensatz zu Analysen der Signalintensität ist die Limitation auf eine 256-stufige Skala.

Die Verfettung eines Muskels lässt sich auch mittels automatisierter Verfahren berechnen. Hierfür wird zunächst die CSA des zu untersuchenden Muskels vom Untersucher bestimmt. Im Anschluss wird mit Hilfe einer Bildverarbeitungssoftware anhand eines Schwellenwertes nur der Anteil des Muskels in die Berechnung einbezogen, der innerhalb eines spezifischen Bereiches der Signalintensität liegt. Die so ermittelte FCSA repräsentiert den Anteil des Muskels, der nicht durch Fett ersetzt wurde (162). Der reziproke Wert ($1 - \text{FCSA}$) entspricht der Fettfraktion.

Zur Bestimmung des Schwellenwertes, ab dem ein Pixel innerhalb des zu untersuchenden Bereiches als mageres Muskelgewebe gewertet wird, gibt es unterschiedliche Methoden.

Durch eine visuelle Auswahl des Schwellenwertes, basierend auf optischen Unterschieden in der Pixelintensität, können fettinfiltrierte Bereiche in der Berechnung der funktionellen Muskelmasse ausgeschlossen werden (176, 185).

Eine weitere Möglichkeit besteht darin, einen gemittelten diskreten Schwellenwert für alle Muskeln zu verwenden. Hierdurch wird die Datenverarbeitungszeit deutlich kürzer (160, 162, 180).

Aufgrund der technischen Eigenschaften der MRT ist es möglich, dass die Signalintensität für den gleichen Gewebetyp sowohl zwischen den Patienten als auch den Scanebenen und sogar innerhalb der gleichen Scanschicht variieren kann (162). Alternativ lässt sich ein schichtspezifischer Schwellenwert für jede Ebene, anhand des größten Bereiches homogener Muskelmasse (162) bzw. mehrerer kleinerer Bereiche mageren Muskelgewebes (183, 194), bestimmen.

Dies hat den erheblichen Vorteil, dass die Abgrenzung zwischen Muskel und Fett wesentlich präziser ist. Ein hoher ICC und niedrige relative Standardfehler bei der Messung von CSA und FCSA zeigen, dass diese Methode sehr zuverlässig ist (183, 194).

Es gibt eine Vielzahl von Analyseprogrammen zur Auswertung radiologischer Bilddaten. Eine der am weitest verbreiteten, frei verfügbaren Software ist ImageJ (U.S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA; <http://rsb.info.nih.gov/ij>). Sie wurde bereits in mehreren Studien zur Messung der CSA und FCSA mittels Schwellenwertmethode verwendet, wobei die Intraklassen-Korrelationskoeffizienten für die Intrarater-Zuverlässigkeit beider Flächenmessungen zwischen 0,89 und 0,99 lag (162, 183, 196).

Eine weitere häufig verwendete Auswertungssoftware ist OsiriX (pixmeo SARL, Genf, Schweiz).

In einem Vergleich dieser beiden Analyseprogramme an T2-gewichteten MRT-Bildern der paraspinalen Muskulatur zeigte sich eine ähnlich gute Übereinstimmung zwischen den Messungen der Muskelzusammensetzung, (ICC 0,81 - 0,99).

Auch die Interobserver-Zuverlässigkeit beider Programme zeigte sich bei den Messungen vergleichbar, wobei die Zuverlässigkeitskoeffizienten (ICC) zwischen 0,77 und 0,99 für OsiriX und 0,78 und 0,99 für ImageJ variierten. Bei gleicher Zuverlässigkeit war die Bearbeitungszeit pro Untersuchung für ImageJ jedoch deutlich kürzer (183, 184).

4.3. Verteilungsmuster

Die meisten Muskeldystrophien unterscheiden sich in Ausprägung, Progredienz und Verteilungsmuster der Muskelveränderungen. Bei Morbus Pompe ist vor allem die Muskulatur des Halteapparates von Veränderungen betroffen.

In einer Ganzkörperuntersuchung mittels CT von De Jager bei Patienten mit LOPD zeigten sich die deutlichsten Anomalien in der Lenden- und Rumpfmuskulatur, gefolgt von der Oberschenkelmuskulatur. Im Bereich der Lendenwirbelsäule waren die Veränderungen in der Paraspinal-, Psoas- und ventrolateralen Rumpfmuskulatur sowie im Musculus rectus abdominis am stärksten ausgeprägt. In der Oberschenkelregion zeigten sich vor allem der Musculus vastus medialis, adductor magnus und biceps femoris betroffen. Die Schultern und die Unterschenkelmuskeln wiesen lediglich mäßige bis leichte Anomalien auf (166).

Auch Cinnamon beschrieb, dass Patienten mit Morbus Pompe im Erwachsenenalter an einer Atrophie und Fettdegeneration sowohl der paraspinalen Muskulatur als auch des Musculus psoas leiden. Im Oberschenkel kamen, wie zuvor beschrieben, pathologische Areale vor allem im Bereich des Musculus vastus medialis, adductor magnus und biceps femoris vor (72).

Mittels MRT-Untersuchungen lässt sich das typische myopathische Verteilungsmuster mit Fettinfiltration und Muskelatrophie bei adulten Patienten mit Morbus Pompe ebenfalls beobachten. Pichiechio et al. zeigten mit Hilfe der MRT eine Korrelation der klinischen Kraftgradmessungen mit dem Ausmaß der muskulären Verfettung. Die klinisch am stärksten betroffenen Areale stellten die Oberschenkelmuskulatur, der Beckengürtel und die lumbale paravertebrale Muskulatur dar. Die distale Beinmuskulatur und der Schultergürtel waren auch in diesem Studienkollektiv weniger stark betroffen.

Bei den Beckenmuskeln überwog die Schwäche der Hüftstrecker, der Adduktoren sowie des Musculus psoas. Die Innenrotatoren des Oberschenkels blieben weitestgehend ausgespart. Das Muster der muskulären Beteiligung trat sowohl in den frühen als auch in den späteren Stadien der Erkrankung symmetrisch auf (167).

4.3.1. Muskelfaserverteilung

Die Skelettmuskeln von erwachsenen Säugetieren enthalten mindestens drei verschiedene Fasertypen, die auf der Grundlage ihrer funktionellen und metabolischen Eigenschaften als Typ I (langsame, tonische Muskelfasern), Typ IIA (schnelle, phasische Muskelfasern (oxidativ)) oder Typ IIX (schnelle, phasische Muskelfasern (glykolytisch)) bezeichnet werden) (197). Die verschiedenen Fasertypen zeichnen sich durch ihre spezifischen Myosin-Schwerketten-Isoforme (MHC) aus (198). Jeder Fasertyp enthält ein spezifisches Isoenzym für das kontraktile Myosinprotein. Die unterschiedlichen Fasertypen können auf der Grundlage ihrer jeweiligen Myosin-ATPase-Aktivität mit Hilfe histochemischer Techniken bestimmt werden. Die MHC-Isoformen bestimmen die funktionellen mechanischen Eigenschaften der einzelnen Muskelfasern. Deren Stoffwechseleigenschaften unterscheiden sich im Allgemeinen hinsichtlich der oxidativen und glykolytischen Kapazität (198).

Muskelfasern vom Typ I besitzen eine niedrige ATPase-Aktivität, eine langsame Kontraktionsgeschwindigkeit und eine niedrige maximale Geschwindigkeit. Darüber hinaus enthalten sie einen höheren Gehalt an Mitochondrien und an oxidativen Enzymen als die Muskelfasern vom Typ II. Dementsprechend sind sie im Vergleich auch deutlich ermüdungsresistenter. Typ II Fasern zeichnen sich durch höhere ATPase-Aktivitäten und eine schnelle isometrische Kontraktionsgeschwindigkeit aus. Sie sind vor allem mit Enzymen ausgestattet, welche die Regeneration von ATP durch anaerobe Mechanismen unterstützen (197).

Das Vorhandensein verschiedener Fasertypen innerhalb eines Muskels, in ihren unterschiedlichen Verhältnissen, sorgt für eine entsprechende Vielseitigkeit in der Funktion. Muskeln können bei ausreichender Stimulation und konsequenter Anpassung bis zu einem gewissen Grad ihre Fasertypzusammensetzung und die Größe der einzelnen Fasern verändern (197, 198). Es besteht ein Zusammenhang zwischen dem Anteil des Muskelfasertyps und seiner primären Funktion. Fasern vom Typ I überwiegen vor allem in tonischen Muskeln und übernehmen häufig eine posturale Funktion. Im Gegensatz dazu überwiegen die Fasern vom Typ II in Muskeln deren primäre Funktion darin besteht, schnelle Bewegungen auszuführen, wie z.B. in einem Teil der Muskeln der Extremitäten (198).

Paraspinale Muskulatur

Die Extensionsmuskulatur der Lenden- und Brustwirbelsäule wird als *Musculus erector spinae* bezeichnet. Sie wird von der *Fascia thoracolumbalis* umhüllt und lässt sich unterteilen in einen tief gelegenen medialen Muskelstrang und einen oberflächlicher gelegenen lateralen Muskelstrang.

Der tief gelegene mediale Muskelstrang, welcher sich aus kurzen und mittellangen Muskeln zusammensetzt, bildet ein interspinales (*Musculi interspinales*, *Musculus spinalis*, *Musculi intertransversarii*) und ein transversospinales System (*Musculi rotatores*, *Musculus multifidus*, *Musculus semispinalis*). Durch das interspinale System werden entweder zwei Dornfortsätze oder zwei Querfortsätze der Wirbelsäule miteinander verbunden. Die Querfortsätze werden jeweils durch das transversospinale System mit den Dornfortsätzen verbunden. Der *Musculus multifidus* stabilisiert die Haltung in der Sagittalebene, während die lumbalen Anteile der *Musculi longissimus* und *iliocostalis* die Haltung in der Frontalebene stabilisieren. Der laterale Strang besteht aus dem medial gelegenen *Musculus longissimus* sowie dem lateral gelegenen *Musculus iliocostalis* (199).

Die paraspinalen Muskeln sind für die Initiierung und Kontrolle aller Bewegungen der Wirbelsäule verantwortlich. Sie sind an den kleinen aktiven Bewegungen beteiligt, wie z.B. der Einleitung von Manövern, welche später durch die Schwerkraft unterstützt werden. Zudem tragen sie zur Aufrechterhaltung der Haltung bei, wenn beispielsweise die Bewegung anderer Körpersegmente zur Verlagerung des Schwerpunkts führt. Außerdem sind sie an größeren Bewegungen z.B. beim Vorwärtsbeugen und Heben beteiligt (197).

Eines der hervorstechenden Merkmale der paraspinalen Muskulatur ist das Überwiegen der darin enthaltenen Muskelfasern vom Typ I, im Vergleich zu vielen anderen Skelettmuskeln (197). Die genaue Muskelfaserzusammensetzung und die sich hieraus abgeleitete Funktion werden in der Literatur kontrovers diskutiert.

Die prozentuale Verteilung für des *Musculus erector spinae* im Bereich der Lumbalregion liegt bei Frauen für Typ I Muskelfasern um 64%, für Typ IIA Muskelfasern um 27% und für Typ IIX Muskelfasern bei 9%. Bei Männern liegt der durchschnittliche Anteil an Typ I Muskelfaser um 65%, an Typ IIA Muskelfasern um 24% und an Typ IIX Muskelfasern um 10%. Es kann jedoch zu individuellen

Variationen der jeweiligen Muskelfaseranteile kommen, die durch Faktoren wie Belastung, Trainingszustand und Alter bedingt sein können (200). Ein signifikanter Unterschied der Muskelfaserverteilung zwischen der thorakalen und der lumbalen Region der Muskeln dieser Gruppe besteht weder in der Verteilung noch bei der proportionalen Fläche, welche von jedem der Fasertypen eingenommen wird (197).

Musculus psoas

Der Musculus psoas ist ein langer Muskel, der auf beiden Seiten der Lendenwirbelsäule verläuft. Er hat einen komplexen Ursprung und setzt an den vorderen Flächen der Querfortsätze aller Lendenwirbel und seitlich an den Körpern zweier benachbarter Wirbel und ihrer Bandscheibe vom 12. Brustwirbel bis zum fünften Lendenwirbel an. Der Muskel mündet in einer Sehne, die, nachdem sie sich mit dem Musculus iliacus verbunden hat, am Trochanter minor des Oberschenkelknochens ansetzt. Er ist der einzige Muskel, der die Lendenwirbelsäule und die unteren Gliedmaßen verbindet. Der kaudale Teil des Muskels hat eine wichtige dynamische Funktion als Hauptbeugemuskel des Hüftgelenks und zusätzlich als Abduktor und Supinator des Beins im Hüftgelenk. Gleichzeitig ist der kraniale Teil für die Haltungsfunktion als Stabilisator der Lendenwirbelsäule, der Iliosakral- und Hüftgelenke sowie der Lendenlordose verantwortlich (posturale Funktion) (198).

Die spezifische Muskelfaserzusammensetzung des Musculus psoas wird ebenfalls in der Literatur kontrovers diskutiert. Grundsätzlich besteht eine deutliche Mehrheit der Muskelfasern vom Typ II im Vergleich zu Fasern vom Typ I, wobei sich hauptsächlich Fasern vom Typ IIA (50%) zeigen. Fasern vom Typ I sind zu 40% und Fasern vom Typ IIX zu 10% vorhanden. Mehrere Studien haben gezeigt, dass die Größe der Muskelfasern und die Verteilung der Muskelfasertypen variieren. Es lassen sich Unterschiede in Bezug auf die oberflächlichen oder tieferen Anteile sowie die proximalen oder distalen Anteile des Muskels finden (198).

Die Zusammensetzungen der paraspinalen Muskulatur und des Musculus psoas unterscheiden sich entsprechend ihrer Funktion in der Muskelfaserzusammensetzung sehr deutlich. Während bei der paraspinalen Muskulatur der Fasertyp I überwiegt, besteht der Musculus psoas mehrheitlich aus Typ II Muskelfasern.

5. Material und Methoden

5.1. Patienten

In dieser retrospektiven Studie untersuchten wir 41 Patienten mit bestätigtem „late-onset“ Morbus Pompe, die in der Villa Metabolica des Zentrums für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz zwischen 2006 und 2015 betreut wurden.

Dabei handelte es sich um 19 weibliche und 22 männliche Patienten. Die Altersspanne lag zwischen sechs und 74 (im Median 28) Jahren.

Im Rahmen der Kontrolluntersuchungen erfolgten magnetresonanztomographische Aufnahmen. Diese MRT-Bilder wurden in unserer retrospektiven single-center Studie analysiert. Alle Patienten und/oder ihre Erziehungsberechtigten gaben nach vorheriger Aufklärung ihre schriftliche Einverständniserklärung zur MRT-Untersuchung und Datenauswertung.

Auswertbare Nachuntersuchungen (vgl. Abschnitt 5.6) wurden bei 13 Patienten, die mit Alglucosidase alfa behandelt wurden, nach durchschnittlich 39 Monaten durchgeführt. Bei 7/13 Patienten erfolgte eine zusätzliche Nachuntersuchung nach durchschnittlich 63 Monaten.

5.2. MRT-Untersuchungen

In diesem Teil der Untersuchung wurden drei Methoden zur Bestimmung der Fettfraktion (FF) mittels MRT der paraspinalen Lumbalmuskulatur und des Musculus psoas verglichen. Ziel war es, diejenige Methode zu ermitteln, welche möglichst zuverlässig, genau und zeiteffizient ist.

Die Untersuchungen wurden an einem 1,5-Tesla-Gerät (MAGNETOM Avanto®, Siemens, Erlangen, Deutschland; 45 mT/min, Anstiegsgeschwindigkeit = 200 T/m/ms, n = 34) oder an einem 3-Tesla-Gerät (MAGNETOM Skyra®, Siemens, Erlangen, Deutschland; 45 Minuten mT/min, Anstiegsgeschwindigkeit = 200 T/m/ms, n = 7) durchgeführt. Für die Signaldetektion wurde die integrierte Wirbelsäulenfeldspule verwendet. Das standardisierte Untersuchungsprotokoll bestand aus T1- und T2-

gewichteten Turbo-Spin-Echo (TSE)-Sequenzen der Lendenwirbelsäule in koronarer und transversaler Schichtführung. Alle Sequenzen wurden unter Verwendung einer Rekonstruktionsmatrix von 384×384 , einer Schichtdicke von 5 mm und einem Flipwinkel von 150° erstellt. Weitere Scan-Parameter bei 1,5 T waren wie folgt: T1-TSE (Repetitionszeit/Echozeit [TR/TE] 600/12 ms, Sichtfeld [FoV] 280 mm, T2-TSE (TR/TE 3500/105 ms, FoV 280 mm) und bei 3T: T1-TSE (TR/TE 630/11 ms, FoV 200 mm), T2-TSE (TR/TE 3500/110 ms, FoV 200 mm). Die gesamte Untersuchungszeit betrug etwa zehn Minuten pro Patienten. Es wurde für die Aufnahmen kein Kontrastmittel appliziert.

Die Bilder wurden im DICOM-Format im klinikinternen PACS („picture archiving and communication system“) gespeichert.

5.3. Semi-quantitative Auswertung (Mercuri Score)

Die MRT-Untersuchungen wurden von zwei Radiologen unabhängig voneinander retrospektiv bewertet. Um das Ausmaß der fettigen Degeneration des Musculus psoas und der paraspinalen Muskeln zu bestimmen, wurde der Grad der Fettdegeneration gemäß der von Mercuri et al. etablierten Skala (vgl. Tabelle 1) für beide Muskelgruppen und Wichtungen eingestuft (10). Für alle Auswertungen wurden die transversalen Schichten auf der Höhe von L3 und L5 ausgewählt. Die Muskelquerschnittsfläche wurde in dieser Höhe verwendet, da sie mit der gesamten Körpermuskelmasse sowohl bei gesunden als auch bei Patienten mit Myopathien korreliert und zusätzlich Rückschlüsse auf die Extremitätenmuskulatur erlaubt (201).

Mercuri Score	Beschreibung	Verfettungsgrad
1	Normales Aussehen	0-10%
2	Milde Beteiligung Frühes mottenfraßähnliches Erscheinungsbild mit verstreuten kleinen Bereichen erhöhter Signalintensität oder zahlreichen diskreten Bereichen erhöhter Signalintensität mit beginnender Konfluenz	10-30%
3	Moderate Beteiligung Spätes mottenfraßähnliches Erscheinungsbild mit zahlreichen diskreten Bereichen erhöhter Signalintensität und beginnender Konfluenz	30-60%
4	Starke Beteiligung - Verwaschenes Erscheinungsbild - Unscharfes Erscheinungsbild aufgrund zusammenfließender Bereiche erhöhter Signalintensität - Erscheinungsbild im Endstadium, bei dem die Muskeln durch Bindegewebe und Fett mit erhöhter Dichte ersetzt wurden und nur ein Faszienrand und neurovaskuläre Strukturen erkennbar sind	>60%

Tabelle 1 – Übersicht Mercuri Scores

Einteilung der muskulären Veränderungen nach Mercuri et al. anhand des visuellen Erscheinungsbildes im MRT (10).

5.4. Quantitative Auswertung

5.4.1. Manuelle Evaluation (FF_{man})

Alle Messungen wurden von zwei unabhängigen Untersuchern mit der AquariusNET-Software (Version 4.4.11.338, TeraRecon, Foster City, CA, USA) an axialen T1- und T2-gewichteten Bildern durchgeführt. Es wurden jeweils vier Regionen (ROI) auf L3- und L5-Ebene definiert (siehe Abbildung 3). Diese umfassten einerseits den Musculus psoas und andererseits die paraspinalen Muskeln. Hierzu wurden die Spinotransversalmuskeln (vorwiegend Musculus multifidus) und die Erector Spinae-Gruppe (Musculus longissimus und iliocostalis) eingeschlossen (202).

Anschließend wurden die mittleren Signalintensitäten (SI_{Muskel}) für jede ROI bestimmt. Zusätzlich wurden weitere ROI, welche ausschließlich subkutanes Fett im gleichen Abstand von der Untersuchungsfläche enthielten, bestimmt. Diese dienten als Referenzwerte für die Signalintensität von Fett (SI_{Fett}). Das Verhältnis zwischen der

Signalintensität jedes Muskeltyps und der entsprechenden ROI im subkutanen Fett wurde als FF_{man} ($= SI_{\text{Muskel}}/SI_{\text{Fett}}$) definiert. FF_{man} wurde als Maß für die muskuläre fettige Degeneration verwendet (Abbildung 3). Ein Wert von 1 (d.h. $SI_{\text{Fett}} = SI_{\text{Muskel}}$) oder größer als 1 ($SI_{\text{Muskel}} > SI_{\text{Fett}}$) zeigt eine vollständige fettige Degeneration des Muskels an. Dieses Verhältnis nimmt mit zunehmender Muskelmasse ab.

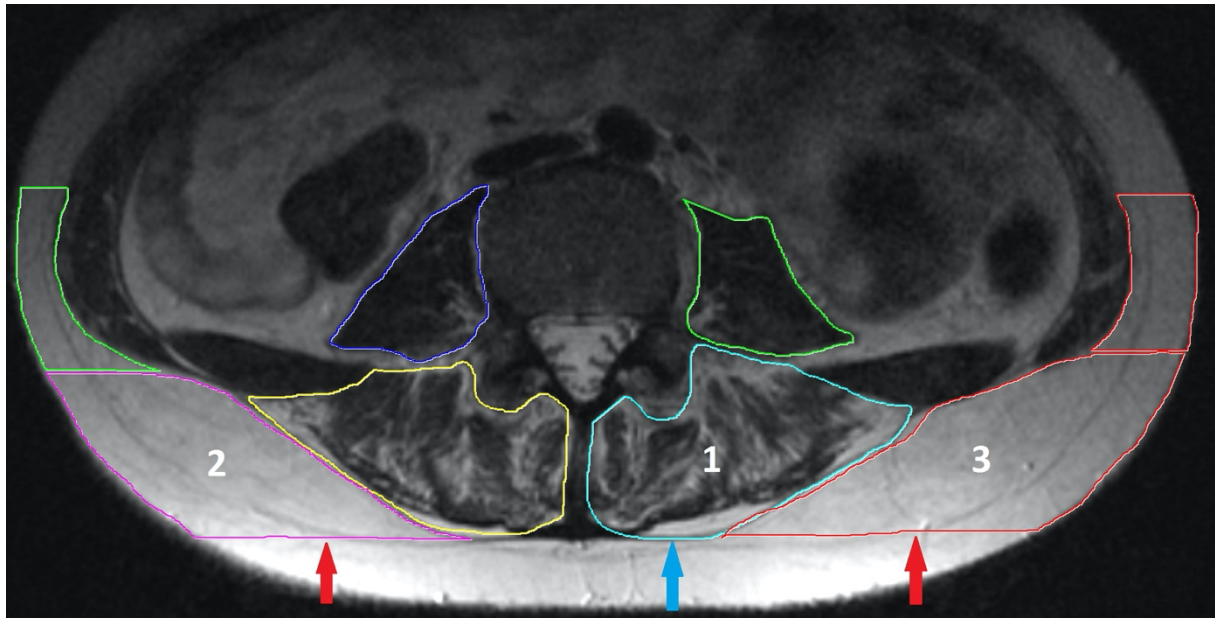


Abbildung 3 – Aus der MRT abgeleitete Messung der FF_{man}

Mehrere, zu untersuchende Bereiche werden (aus einer T2-gewichteten TSE-Sequenz auf der L5-Ebene) für den Musculus psoas und die paraspinalen Muskeln zusammen mit entsprechenden subkutanen Fett-ROIs ausgewählt. Die ROIs werden zur Berechnung von FF_{man} aus der Gleichung $FF_{\text{man}} = SI_{\text{Muskel}} / SI_{\text{Fett}}$ verwendet. Als Beispiel wird die FF_{man} für den linken Paraspinalmuskel (0,45) mit dem Mittelwert für $SI_{\text{ROI-1}}$ (blauer Pfeil; 277), teilbar durch $SI_{\text{ROI-2/3}}$ (rote Pfeile; 615), berechnet.

5.4.2. Semi-automatische Auswertung (FF_{aut})

Alle Messungen wurden von zwei unabhängigen Untersuchern unter Verwendung der frei verfügbaren Bildanalysesoftware ImageJ (Version 1.49; U.S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA; <http://rsb.info.nih.gov/ij>) durchgeführt.

Wie bereits beschrieben, wurden die zu untersuchenden Regionen beidseits in transversalen Schichten für den Musculus psoas und die paraspinalen Muskulatur definiert (202). Für jede ROI wurden, wie von Fortin und Battisti vorgeschlagen, mehrere Parameter berechnet (183). Diese Parameter umfassten die CSA und die

FCSA, wobei letztere ein Maß für das verbleibende funktionelle Gewebe in den jeweiligen Muskeln darstellt. Zusammenfassend werden FCSA-Messungen durch eine Schwellenwertmethode bestimmt, bei der die obere Grenze für die Signalintensität des Muskelgewebes durch den Untersucher definiert wird (Abbildung 4).

Innerhalb des zu untersuchenden Muskels wurden mittels des ROI-Tools vier bis sechs RIOs von homogenem magerem Muskelgewebe gleichmäßig und bilateral ausgewählt und der insgesamt niedrigste Minimalwert als untere Schwellengrenze bestimmt. Mittels dieses Grenzwertes wurde anschließend die FCSA der ausgewählten ROI berechnet (183). Der Fettanteil (FF_{aut}) wurde durch die Gleichung $FF_{\text{aut}} = 1 - \text{FCSA} / \text{CSA}$ definiert. Die resultierenden Werte reichen von 0 (keine Degeneration) bis 1 (vollständige fettige Degeneration).

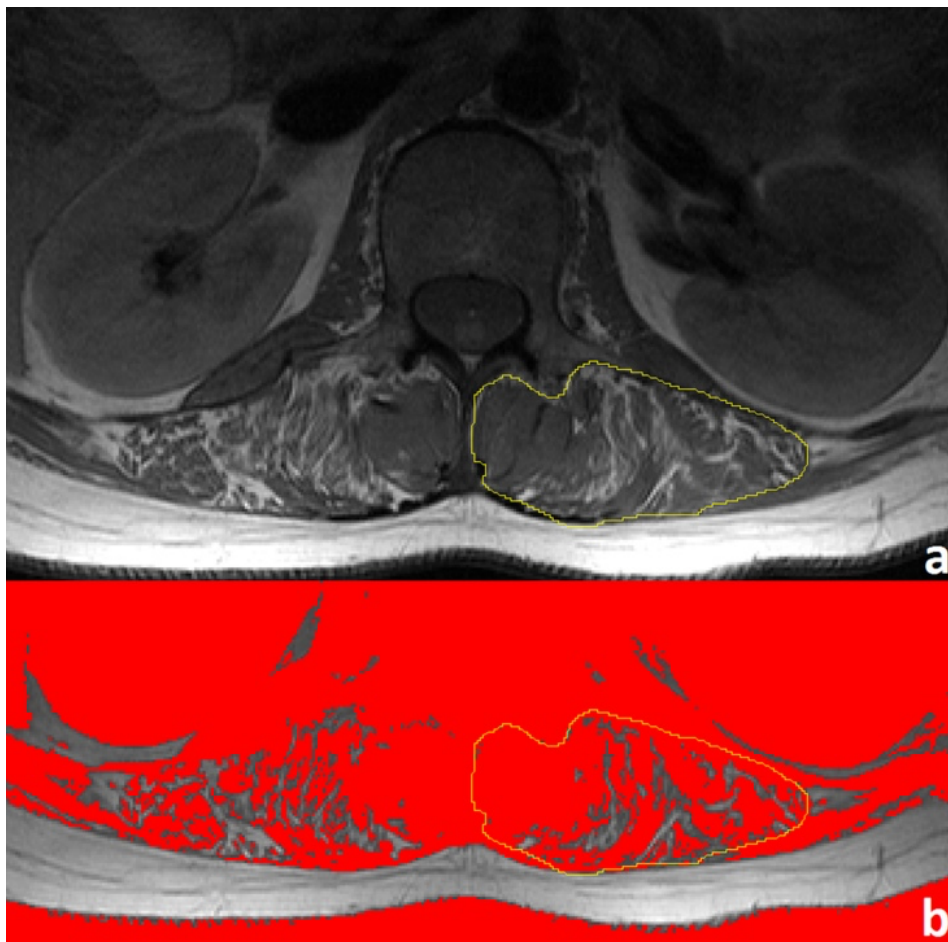


Abbildung 4 – Aus der MRT abgeleitete Messung der FF_{aut}

Es wird ein zu untersuchender Bereich aus einer T1-gewichteten TSE-Sequenz in der linken paraspinalen Muskulatur in der L3-Ebene ausgewählt (Bild a). Die FF_{aut} wird anhand der Gleichung $FF_{\text{aut}} = 1 - \text{FCSA} / \text{CSA}$ berechnet; eine Signalintensitätsschwelle von 772 (abgeleitet vom normalen Muskel - in diesem Fall dem medialen Multifidus-Muskel) trennt Muskel vom Fettgewebe. Pixel unterhalb dieser Schwelle, rot eingefärbt (Tafel b), bilden die FCSA (1096 mm^2), während die gesamte Fläche der ROI die CSA (1466 mm^2) bildet. Diese Daten führen zu einem FF_{aut} -Wert von 0,25 (1).

5.5. Klinische Untersuchung

Am Tag der MRT-Untersuchung fand zusätzlich eine klinische Untersuchung zur Beurteilung des symptomatischen Voranschreitens der Erkrankung statt. Der Zustand der Patienten wurde unter anderem mittels Sechs-Minuten-Gehtests (203), Vier-Stufen-Steigtests (204), Spirometrie mit Messung der forcierten Vitalkapazität (in sitzender und liegender Position) und Krafttests der paraspinalen Muskeln sowie des Musculus psoas (205) beurteilt. Zur Messung des Kraftgrades wurde die Medical Research Council (MRC)-Skala für Muskelstärke (von 0 bis 5; nur volle Grade) verwendet. Für den bilateral getesteten Musculus psoas wurde, falls diskordant, der niedrigere Score verwendet. Labordiagnostisch erfolgte im Rahmen der Untersuchungen die Messung der Creatinkinase.

5.6. Follow-Up unter Enzymersatztherapie

Follow-Up-MRT-Untersuchungen lagen bei 21 Patienten vor. Von diesen wurden fünf Patienten ausgeschlossen, da eine ERT nicht initiiert wurde ($n = 1$; dieser Patient wurde separat bewertet, um den natürlichen Krankheitsverlauf nachzuweisen), keine Informationen über eine ERT aus den medizinischen Aufzeichnungen entnommen werden konnten ($n = 3$) oder die ERT mehr als 24 Monate nach der initialen MRT eingeleitet wurde ($n = 1$).

Zwei weitere Patienten wurden ausgeschlossen, da die ERT ein bzw. zwei Jahre vor der ersten MRT begonnen worden war. Die verbleibenden 13 Patienten waren für die Beurteilung des Langzeit-Follow-Up unter ERT qualifiziert.

Alle Patienten wurden nach einem standardisierten Schema mit 20 mg Alglucosidase alfa (Myozyme, Sanofi-Genzyme) pro kg KG alle zwei Wochen behandelt. Das erste Follow-up-MRT wurde im Median nach 39 Monaten (24 bis 50 Monate) nach der Basisuntersuchung durchgeführt. Sieben Patienten hatten ein zweites Follow-Up MRT im Median von 63 Monaten (50 bis 83 Monate) nach der ersten Untersuchung.

5.7. Statistik

Unterschiede der Mittelwerte von FF_{aut} und FF_{man} zwischen T1- und T2-gewichteten Bildern wurden mit dem gepaarten t-Test beurteilt. Die Interobserver-Übereinstimmung für Mercuri Scores wurde mittels linear gewichtetem Kappa ausgewertet. Ein κ -Koeffizient von $> 0,6 - 0,8$ zeigte eine gute Übereinstimmung, eine nahezu perfekte Übereinstimmung wurde durch einen κ -Koeffizienten zwischen 0,81 und 1 definiert.

Die Interobserver-Übereinstimmung zwischen den Beobachtern für $FF_{\text{aut}}/FF_{\text{man}}$ wurde unter Verwendung des „two-way mixed single measure“ Intraklassenkorrelationskoeffizienten (ICC) bewertet. ICCs von $>0,50$, $>0,75$ oder $>0,90$ zeigten eine mäßige, gute und ausgezeichnete Übereinstimmung (206).

Korrelationen zwischen Mercuri Scores und klinischen Parametern wurden mit dem Kruskal-Wallis-Test auf Signifikanz getestet. Korrelationen zwischen Mercuri Score, $FF_{\text{aut}}/FF_{\text{man}}$ und quantitativen klinischen Parametern wurden durch Spearmans Korrelationskoeffizienten (ρ) quantifiziert. Dabei entspricht ein p-Wert von $>0,1$, $<0,3$, $<0,5$ jeweils einem schwachen, mittleren und starken Effekt. Zur Evaluation eines Unterschieds zwischen den Korrelationen von FF_{aut} und MRC bzw. FF_{man} und MRC wurde Steigers Z unter Verwendung des R-Pakets „cocor“ (207) verwendet (208).

Unterschiede in den klinischen und MR-Parametern während der Nachuntersuchung wurden durch Anwendung des Wilcoxon-Tests auf Signifikanz überprüft.

Ein p-Wert von $<0,05$ wurde in allen statistischen Analysen als signifikant angesehen. Es wurden keine Anpassungen der p-Werte für multiples Testen durchgeführt. Daher sind die dargestellten p-Werte deskriptiv zu verstehen. Alle Datenanalysen wurden mit SPSS Statistics (Statistical Package for Social Science, Version 23.0, IBM, Ehningen, Deutschland) und RStudio (Integrated Development Environment for R. RStudio, Version 1.3.1093, RStudio Inc., Boston, Massachusetts) durchgeführt. Die statistische Auswertung erfolgte in Kooperation mit dem Institut für Medizinische Biometrie, Epidemiologie und Informatik der Universitätsmedizin Mainz.

6. Ergebnisse

6.1. Semi-quantitative Evaluation (Mercuri Score)

Der Mercuri Score wurde für die initiale Untersuchung der Patienten von zwei unabhängigen Beobachtern bestimmt und ist in Tabelle 2 abgebildet.

Psoas Muskel		Beobachter 2			
		M1	M2	M3	M4
Beobachter 1	M1	20	0	0	0
	M2	1	4	2	0
	M3	0	1	2	2
	M4	0	0	0	9
Paraspinal Muskel		Beobachter 2			
		M1	M2	M3	M4
Beobachter 1	M1	14	0	0	0
	M2	5	2	1	0
	M3	0	0	2	3
	M4	0	0	0	14

Tabelle 2 – Ergebnisse Mercuri Score Bewertung bei initialer Untersuchung

Anzahl der Patienten die bei der initialen Untersuchung durch beide Beobachter zum jeweiligen Mercuri Score (M1-M4) zugeteilt wurden (n=41).

Übereinstimmung zwischen Beobachtern

Die Übereinstimmung zwischen den Beobachtern für die Mercuri Scores war sowohl für den Musculus psoas ($\kappa = 0,89$ [95%-Konfidenzintervall: 0,81 - 0,97]) als auch die paraspinale Muskulatur ($\kappa = 0,85$ [95%-Konfidenzintervall: 0,76 - 0,94]) gut.

6.2. Quantitative manuelle Evaluation (FF_{man})

Die Mittelwerte und die Standardabweichungen des MRT-basierten, manuell ausgewerteten Fettanteils ($FF_{\text{man}} = SI_{\text{Muskel}}/SI_{\text{Fett}}$) sind in Tabelle 3 dargestellt.

Für beide Beobachter zeigte sich bei fast allen FF_{man} Ergebnissen der initialen Untersuchung (Ausnahme: Beobachter 1, paraspinal, L5) ein signifikanter Unterschied zwischen der T1- und T2-Wichtung. Die T1-Werte waren signifikant höher als die T2-Werte. Es ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Ebenen L3 und L5 für die gemessenen FF_{man} -Werte (Ausnahme: paraspinale Muskulatur Beobachter 1 und Beobachter 2, nur T2).

		L3	L5	P-Wert (L3 vs L5)
Beobachter 1 - Psoas Muskel	Mittelwert (T1)	0,55 ± 0,28	0,54 ± 0,29	0,414
	Mittelwert (T2)	0,45 ± 0,33	0,47 ± 0,35	0,417
	P- Wert (T1 vs. T2)	< 0,001	< 0,001	-
Beobachter 1 - Paraspinal Muskel	Mittelwert (T1)	0,57 ± 0,27	0,60 ± 0,25	0,043
	Mittelwert (T2)	0,53 ± 0,35	0,59 ± 0,32	0,018
	P- Wert (T1 vs. T2)	0,006	0,582	-
Beobachter 2 - Psoas Muskel	Mittelwert (T1)	0,48 ± 0,24	0,48 ± 0,22	0,598
	Mittelwert (T2)	0,39 ± 0,29	0,39 ± 0,27	0,600
	P- Wert (T1 vs. T2)	< 0,001	< 0,001	-
Beobachter 2 - Paraspinal Muskel	Mittelwert (T1)	0,58 ± 0,27	0,61 ± 0,21	0,118
	Mittelwert (T2)	0,52 ± 0,33	0,56 ± 0,25	0,028
	P- Wert (T1 vs. T2)	< 0,001	0,001	-

Tabelle 3 – Ergebnisse der quantitativ manuellen Evaluation (FF_{man})

Mittelwerte und Standardabweichungen für FF_{man} für T1- und T2-gewichtete Bilder auf L3- und L5-Ebene. Die p-Werte resultieren aus verbundenen t-Tests, um Unterschiede zwischen den Mittelwerten zwischen T1 und T2 bzw. L3- und L5-Ebene zu demonstrieren bei initialer Untersuchung (n=41).

Übereinstimmung zwischen Beobachtern

Die Übereinstimmung zwischen den Beobachtern wurde mittels ICC für die Bestimmung der SI_{Fett} , SI_{Muskel} und FF_{aut} Werte in T1- und T2-Bildern berechnet und ist in Tabelle 4 dargestellt. Unterschieden wurde zwischen Muskelgruppe, Ebene und Seite.

Es zeigte sich durchschnittlich eine ausgezeichnete Korrelation für SI_{Muskel} und eine gute Korrelation für FF_{man} sowohl in T1- als auch in T2-Wichtung. Korrelationen für einzelne FF_{man} -Werte waren ebenfalls ausgezeichnet. Die ICC für SI_{Fett} in T1- und T2-Wichtung waren durchschnittlich ebenfalls gut, wobei die paraspinale Muskulatur auf Ebene L3 sowohl in T1- als auch T2-Wichtung lediglich eine mäßige Korrelation aufwies. Es war kein signifikanter Unterschied zwischen den T1- und T2-gewichteten Bildern feststellbar.

Muskel	SI _{Fett} T1	SI _{Fett} T2	SI _{Muskel} T1	SI _{Muskel} T2	FF _{man} T1	FF _{man} T2
Psoas L3 rechts	0,754 [0,582 - 0,861]	0,806 [0,666 - 0,892]	0,922 [0,858 - 0,958]	0,963 [0,930 - 0,980]	0,884 [0,707 - 0,947]	0,914 [0,819 - 0,957]
Psoas L3 links			0,940 [0,880 - 0,969]	0,966 [0,931 - 0,983]	0,907 [0,701 - 0,961]	0,919 [0,820 - 0,961]
Paraspinal L3 rechts	0,655 [0,434 - 0,801]	0,663 [0,453 - 0,805]	0,953 [0,914 - 0,974]	0,952 [0,912 - 0,974]	0,947 [0,904 - 0,971]	0,969 [0,942 - 0,983]
Paraspinal L3 links			0,960 [0,927 - 0,979]	0,947 [0,902 - 0,971]	0,950 [0,909 - 0,973]	0,966 [0,938 - 0,982]
Psoas L5 rechts	0,869 [0,763 - 0,928]	0,815 [0,604 - 0,908]	0,966 [0,937 - 0,982]	0,880 [0,787 - 0,934]	0,786 [0,629 - 0,880]	0,771 [0,582 - 0,877]
Psoas L5 links			0,958 [0,906 - 0,979]	0,944 [0,889 - 0,971]	0,804 [0,626 - 0,897]	0,783 [0,583 - 0,886]
Paraspinal L5 rechts	0,773 [0,615 - 0,872]	0,751 [0,578 - 0,859]	0,976 [0,954 - 0,987]	0,963 [0,931 - 0,980]	0,868 [0,767 - 0,927]	0,943 [0,895 - 0,969]
Paraspinal L5 links			0,973 [0,950 - 0,986]	0,827 [0,700 - 0,904]	0,868 [0,766 - 0,927]	0,716 [0,527 - 0,837]
Mittelwert	0,76	0,76	0,96	0,93	0,88	0,87

Tabelle 4 – Übereinstimmung der Beobachter bei FF_{man}

Ermittlung über Zwei-Wege Intraklassen-Korrelationskoeffizient (ICC), mit den Ober- und Untergrenzen für die 95%-Konfidenzintervalle (p-Werte für alle Koeffizienten <0,001) bei initialer Untersuchung (n=41).

6.3. Quantitative semi-automatische Evaluation (FF_{aut})

Die Mittelwerte und die Standardabweichung des MRT-basierten teilautomatisch ausgewerteten Fettanteils ($FF_{aut} = 1 - FCSA / CSA$) sind in Tabelle 5 für beide Beobachter für T1- und T2-Wichtung auf Ebene L3 und L5 dargestellt.

Für beide Beobachter zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen T1- und T2-Wichtung für alle FF_{aut} Ergebnisse der initialen Untersuchung. Die Werte in T2-Wichtung waren signifikant höher als die Werte in T1-Wichtung. Es ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen der L3- und L5-Ebene für die FF_{aut}-Werte (Ausnahme: Musculus psoas, T2).

		L3	L5	P-Wert (L3 vs L5)
Beobachter 1 - Psoas Muskel	Mittelwert (T1)	0,37 ± 0,35	0,35 ± 0,37	0,515
	Mittelwert (T2)	0,43 ± 0,34	0,39 ± 0,36	0,018
	P- Wert (T1 vs. T2)	< 0,001	< 0,001	-
Beobachter 1 - Paraspinal Muskel	Mittelwert (T1)	0,41 ± 0,38	0,43 ± 0,35	0,617
	Mittelwert (T2)	0,47 ± 0,36	0,47 ± 0,34	0,769
	P- Wert (T1 vs. T2)	< 0,001	< 0,001	-
Beobachter 2 - Psoas Muskel	Mittelwert (T1)	0,34 ± 0,37	0,37 ± 0,39	0,277
	Mittelwert (T2)	0,37 ± 0,35	0,4 ± 0,37	0,013
	P- Wert (T1 vs. T2)	0,009	< 0,001	-
Beobachter 2 - Paraspinal Muskel	Mittelwert (T1)	0,47 ± 0,40	0,49 ± 0,36	0,124
	Mittelwert (T2)	0,51 ± 0,38	0,52 ± 0,32	0,296
	P- Wert (T1 vs. T2)	< 0,001	0,004	-

Tabelle 5 – Ergebnisse der quantitativen teilautomatischen Evaluation (FF_{aut})

Mittelwerte und Standardabweichung für FF_{aut} für T1- und T2-gewichtete Bilder auf L3- und L5-Ebene. Die p-Werte resultieren aus verbundenen t-Tests, um Unterschiede zwischen den Mittelwerten aus T1 und T2 bzw. L3- und L5-Bildern zu demonstrieren bei initialer Untersuchung (n=41).

Übereinstimmung zwischen Beobachtern

Die Übereinstimmung zwischen den Beobachtern für die Bestimmung der CSA, FCSA und FF_{aut}-Werte in T1- und T2-gewichteten Aufnahmen ist in Tabelle 6 dargestellt. Zusätzlich wurde zwischen Muskelgruppe, Ebene und Seite unterschieden.

Der ICC für den resultierenden FF_{aut}-Wert war in allen oben genannten Parametern mit durchschnittlich $p = 0,96$ ausgezeichnet. Die mittlere Korrelation der FCSA stellte sich ebenfalls ausgezeichnet dar. Gute Korrelationen ergaben sich im Mittel für die CSA-Werte. Lediglich für den relativ kleinen Musculus psoas stellten sich in L3-Ebene auf der rechten Seite eine nur mäßige Korrelation dar. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen T1- und T2-gewichteten Bildern.

Muskel	CSA	FCSA T1	FCSA T2	FF _{aut} T1	FF _{aut} T2
Psoas L3 rechts	0,617 [0,388 - 0,775]	0,742 [0,565 - 0,853]	0,728 [0,529 - 0,849]	0,931 [0,876 - 0,963]	0,928 [0,844 - 0,965]
Psoas L3 links	0,761 [0,593 - 0,865]	0,843 [0,725 - 0,913]	0,868 [0,758 - 0,928]	0,933 [0,878 - 0,964]	0,941 [0,828 - 0,974]
Paraspinal L3 rechts	0,895 [0,813 - 0,943]	0,959 [0,887 - 0,982]	0,972 [0,943 - 0,986]	0,968 [0,898 - 0,986]	0,976 [0,953 - 0,988]
Paraspinal L3 links	0,875 [0,778 - 0,931]	0,959 [0,892 - 0,982]	0,963 [0,907 - 0,983]	0,971 [0,925 - 0,987]	0,965 [0,923 - 0,983]
Psoas L5 rechts	0,914 [0,846 - 0,953]	0,964 [0,933 - 0,980]	0,971 [0,946 - 0,984]	0,970 [0,944 - 0,984]	0,970 [0,945 - 0,984]
Psoas L5 links	0,832 [0,706 - 0,906]	0,919 [0,854 - 0,956]	0,942 [0,893 - 0,969]	0,960 [0,927 - 0,979]	0,973 [0,951 - 0,986]
Paraspinal L5 rechts	0,823 [0,428 - 0,929]	0,923 [0,526 - 0,975]	0,919 [0,689 - 0,969]	0,953 [0,822 - 0,981]	0,958 [0,886 - 0,981]
Paraspinal L5 links	0,874 [0,720 - 0,939]	0,937 [0,694 - 0,977]	0,938 [0,819 - 0,973]	0,954 [0,820 - 0,982]	0,943 [0,874 - 0,972]
Mittelwert	0,82	0,91	0,91	0,96	0,96

Tabelle 6 – Übereinstimmung der Beobachter bei FF_{aut}

Ermittlung über Zwei-Weg Intraklassen-Korrelationskoeffizient (ICC), mit den Ober- und Untergrenzen für die 95%-Konfidenzintervalle (p-Werte für alle Koeffizienten <0,001) bei initialer Untersuchung (n=41).

6.4. Klinische Daten

Die Ergebnisse der initial durchgeführten klinischen Tests sind in Tabelle 7 dargestellt. Für den Sechs-Minuten-Gehtest ergab sich eine mittlere Laufstrecke von 469m (39 der 41 Patienten berücksichtigt). Der Vier-Stufen-Steigttest resultierte in einem durchschnittlichen Zeitbedarf von 4,2s (36 der 41 Patienten berücksichtigt). Die forcierte Vitalkapazität (FVC) wies einen mittleren Wert von 3l sitzend und 2,6l stehend auf (40 der 41 Patienten berücksichtigt). Die Creatinkinase-Werte betrugen im Durchschnitt 828 U/l (alle Patienten berücksichtigt). Die Stärke des Musculus psoas und der Paraspinalmuskulatur, welche anhand der MRC-Skala (0 - 5) bewertet wurde, ergab jeweils Mittelwerte von 3,7 und 4,1 (40 der 41 Patienten berücksichtigt).

	Mittelwert ± SD	Minimum	Maximum
6min-Gehtest [m]	469 ± 166	162	810
4-Stufensteig-Test [s]	4,2 ± 5,1	1,1	30,9
FVC sitzend [l]	2,96 ± 1,11	1,00	5,76
FVC liegend [l]	2,55 ± 1,19	0,54	5,59
Creatinkinase [U/l]	828 ± 488	164	2256
MRC Psoas	3,68 ± 1,11	2	5
MRC Paraspinal	4,13 ± 0,94	2	5

Tabelle 7 – Ergebnisse für erhobene klinische Daten

Mittelwerte ± Standardabweichung (SD), Minimum und Maximum für klinische Tests bei der initialen Untersuchung.

6.5. Korrelationen

6.5.1. Klinische Daten und Mercuri Score

Die Mercuri Scores korrelierten bei beiden Beobachtern gut mit den klinischen Parametern, insbesondere beim Sechs-Minuten-Gehtest und der FVC in Rückenlage (Tabelle 8). Die Kategorien 2 und 3 wurden aufgrund von geringen Häufigkeiten kombiniert.

Die Mercuri Scores beider Beobachter korrelierten ebenfalls gut mit den MRC-Werten für den Musculus psoas und die paraspinalen Muskeln, wobei die Korrelation mit dem Musculus psoas besser war als mit der paraspinalen Muskulatur (Musculus psoas: $r = -0,68$, $P < 0,001$).

	Mercuri Score	6min-Gehtest	4-Stufensteig-Test	FVC sitzend	FVC liegend	Creatinkinase	MRC Score (n = 40)
Psoas	1	535m	2,1s	3,2l	3,0l	786 U/l	5
	2/3	473m	3,0s	3,2l	2,7l	895 U/l	3
	4	332m	3,7s	2,4l	1,4l	405 U/l	2
	P-Wert	-	0,049	0,066	0,172	0,006	0,114
	p mit Mercuri (P-Wert)	-	-0,40 (0,012)	0,39 (0,018)	-0,30 (0,062)	-0,52 (0,001)	-0,28 (0,079)
Paraspinal	1	583m	2,1s	3,1l	3,0l	993 U/l	5
	2/3	411m	2,5s	3,3l	2,4l	892 U/l	4
	4	371m	3,3s	2,6l	2,2l	388 U/l	4
	P-Wert	-	0,025	0,064	0,387	0,068	0,007
	p mit Mercuri (P-Wert)	-	-0,40 (0,012)	0,37 (0,025)	-0,20 (0,220)	-0,37 (0,019)	-0,35 (0,023)

Tabelle 8 – Ergebnisse der klinischen Tests je Mercuri Score (I)

Durchschnittliche Ergebnisse der klinischen Daten bei der initialen Untersuchung (n=41) aufgeteilt nach Mercuri Score der paraspinalen Muskeln und des Musculus psoas von Beobachter 1, Ergebnisse der t-Tests und Spearmans Korrelationskoeffizient (ρ). Die Mercuri Scores 2 und 3 sind zusammengefasst.

Abbildung 5 visualisiert die Korrelation zwischen Mercuri Score und den jeweiligen klinischen Parametern. Mit steigenden Mercuri Scores nimmt die klinische Verschlechterung eindeutig zu (Ausnahme: FVC sitzend).

Die Creatinkinase war bei Patienten mit einem sehr hohen Grad an fettiger Muskeldegeneration (Mercuri Score 4) signifikant niedriger als bei Patienten mit niedriger bis mittlerer Muskeldegeneration (Mercuri Score 1-3).

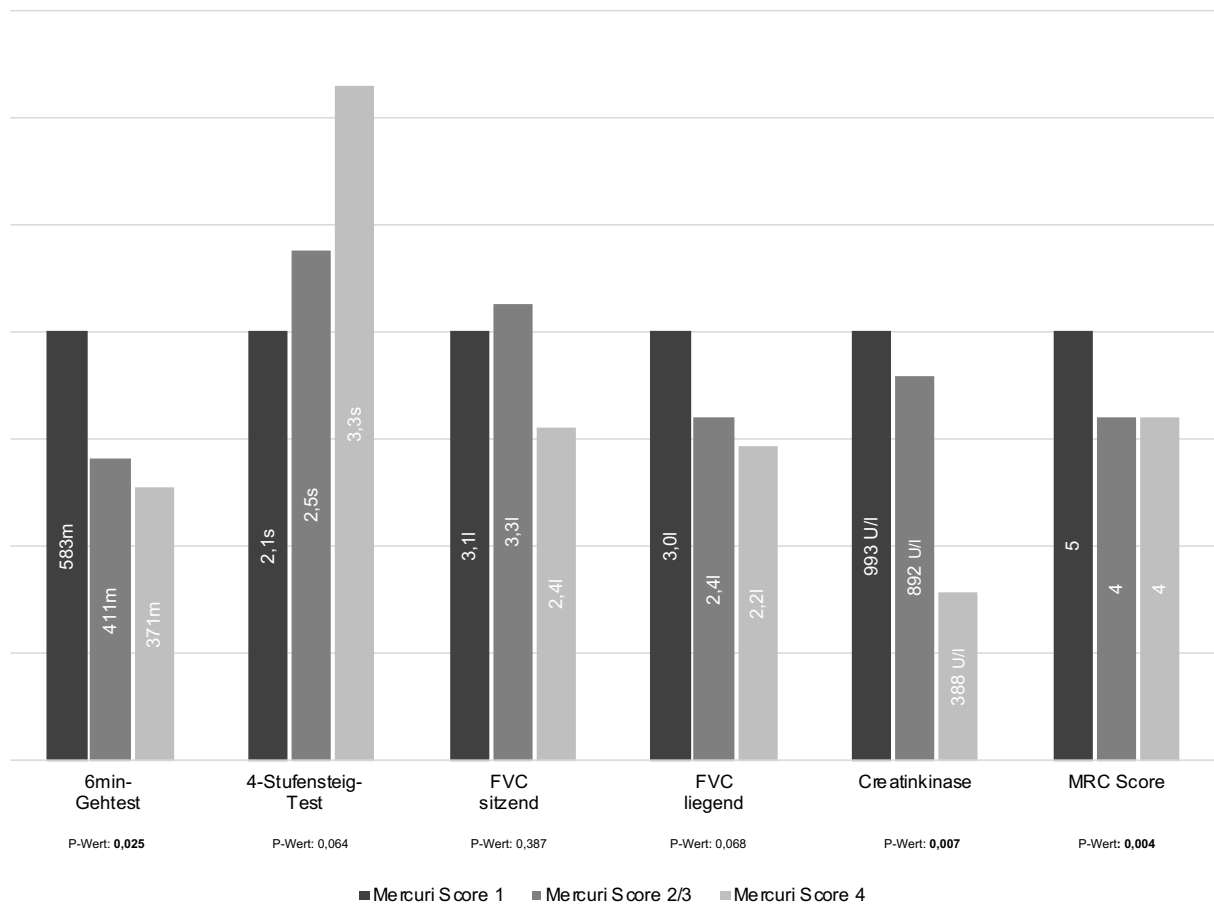


Abbildung 5 – Ergebnisse der klinischen Tests je Mercuri Score (II)

Durchschnittliche Ergebnisse der klinischen Daten bei der initialen Untersuchung (n=41) aufgeteilt nach Mercuri Score der paraspinalen Muskulatur von Beobachter 1 und Ergebnisse der t-Tests. Mercuri Score 2 und 3 sind zusammengefasst.

6.5.2. Klinische Daten und FF_{man}

Die MRC-Werte zeigten eine starke und signifikante Korrelation mit der FF_{man} für beide Muskelgruppen und Beobachter auf. Der p-Wert lag in allen Messungen bei über 0,5. In Tabelle 9 sind die Korrelationen zwischen FF_{man} und den klinischen Untersuchungen für Beobachter 1 dargestellt und zwischen Muskelgruppe, Ebene und Wichtung differenziert.

Es stellte sich eine mittlere signifikante Korrelation des Sechs-Minuten-Gehtests, des Vier-Stufen-Steigtests und der FVC_{liegend} mit FF_{man} für alle untersuchten Parameter dar. Die Spearman-Korrelationskoeffizienten reichten für den Sechs-Minuten-Gehtest von -0,316 (L5, paraspinale Muskeln, T2, Beobachter 2, P = 0,05) bis -0,477 (L3, paraspinale Muskeln, T2, Beobachter 1, P = 0,002).

Umgekehrt wurden mäßig positive Korrelationen für FF_{man} und die Leistung im Vier-Stufen-Steigtest identifiziert, wobei die Korrelationskoeffizienten von 0,359 (L5, paraspinale Muskeln, T1, Beobachter 2, $P = 0,031$) bis 0,519 (L5, paraspinale Muskeln, T2, Beobachter 1, $P = 0,001$) reichten.

Die FVC_{sitzend} korrelierte signifikant mit FF_{man} des Musculus psoas, außer auf Ebene L3 in T2-Wichtung. Es ließ sich hingegen keine signifikante Korrelation von FVC_{sitzend} für die paraspinale Muskulatur nachweisen. Eine signifikante Korrelation zwischen FF_{man} und Creatinkinase konnte nicht beobachtet werden (Ausnahme: Ebene L3 in T1 Wichtung).

	Ebene	Wichtung	6min-Gehtest	4-Stufensteig-Test	FVC sitzend	FVC liegend	Creatinkinase	MRC Score (n = 40)
Psoas - Beobachter 1	L3	T1 (P-Wert)	-0,39 (0,015)	0,47 (0,004)	-0,30 (0,061)	-0,47 (0,002)	-0,33 (0,035)	-0,65 (<0,001)
		T2 (P-Wert)	-0,46 (0,003)	0,46 (0,005)	-0,31 (0,054)	-0,47 (0,002)	0,30 (0,057)	-0,70 (<0,001)
	L5	T1 (P-Wert)	-0,42 (0,008)	0,46 (0,005)	-0,33 (0,037)	-0,50 (0,001)	-0,29 (0,068)	-0,68 (<0,001)
		T2 (P-Wert)	-0,47 (0,002)	0,48 (0,003)	-0,34 (0,030)	-0,50 (0,001)	-0,28 (0,075)	-0,72 (<0,001)
Paraspinal - Beobachter 1	L3	T1 (P-Wert)	-0,36 (0,026)	0,39 (0,020)	-0,25 (0,117)	-0,36 (0,023)	-0,33 (0,036)	-0,59 (<0,001)
		T2 (P-Wert)	-0,48 (0,002)	0,48 (0,003)	-0,30 (0,061)	-0,41 (0,009)	-0,27 (0,086)	-0,67 (<0,001)
	L5	T1 (P-Wert)	-0,35 (0,029)	0,39 (0,021)	-0,24 (0,138)	-0,38 (0,015)	-0,25 (0,109)	-0,68 (<0,001)
		T2 (P-Wert)	-0,45 (0,004)	0,52 (0,001)	-0,22 (0,177)	-0,35 (0,028)	-0,17 (0,278)	-0,72 (<0,001)
Psoas - Beobachter 2	L3	T1 (P-Wert)	-0,40 (0,012)	0,44 (0,007)	-0,34 (0,033)	-0,51 (<0,001)	-0,37 (0,016)	-0,69 (<0,001)
		T2 (P-Wert)	-0,39 (0,015)	0,43 (0,009)	-0,35 (0,029)	-0,53 (<0,001)	-0,33 (0,033)	-0,68 (<0,001)
	L5	T1 (P-Wert)	-0,37 (0,021)	0,44 (0,007)	-0,34 (0,030)	-0,53 (<0,001)	-0,34 (0,028)	-0,67 (<0,001)
		T2 (P-Wert)	-0,46 (0,003)	0,48 (0,003)	-0,35 (0,028)	-0,53 (<0,001)	-0,34 (0,028)	-0,67 (<0,001)
Paraspinal - Beobachter 2	L3	T1 (P-Wert)	-0,34 (0,033)	0,39 (0,019)	-0,20 (0,220)	-0,34 (0,034)	-0,30 (0,054)	-0,68 (<0,001)
		T2 (P-Wert)	-0,42 (0,008)	0,46 (0,005)	-0,22 (0,168)	-0,35 (0,026)	-0,24 (0,138)	-0,72 (<0,001)
	L5	T1 (P-Wert)	-0,32 (0,045)	0,36 (0,031)	-0,18 (0,265)	-0,29 (0,067)	-0,19 (0,244)	-0,63 (<0,001)
		T2 (P-Wert)	-0,32 (0,050)	0,44 (0,007)	-0,11 (0,509)	-0,24 (0,123)	-0,28 (0,073)	-0,60 (<0,001)

Tabelle 9 – Spearmans Korrelationskoeffizient (ρ) für FF_{man} und klinische Tests

Korrelationen für die Mercuri Scores sowie FF_{man} mit den klinischen Daten mittels Spearman-Korrelationskoeffizienten (ρ), jeweils für Untersucher 1/2, Ebene L3 und L5 und Musculus psoas und paraspinale Muskulatur beschrieben.

Abbildung 6 und 7 zeigen das Streudiagramm für den Sechs-Minuten-Gehtest und den Vier-Stufen-Steigtest in Relation zu FF_{man} . In Abbildung 8 und 9 sind die Streudiagramme für die FVC_{sitzend} und FVC_{liegend} in Abhängigkeit zu FF_{man} dargestellt.

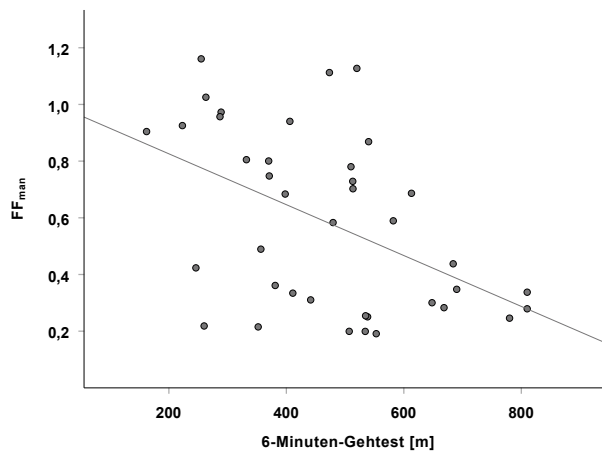


Abbildung 6 – Streudiagramm FF_{man} & 6-Minuten-Gehtest

FF_{man} für L5, Paraspinal, T2, Beobachter 1 und Sechs-Minuten-Gehtest

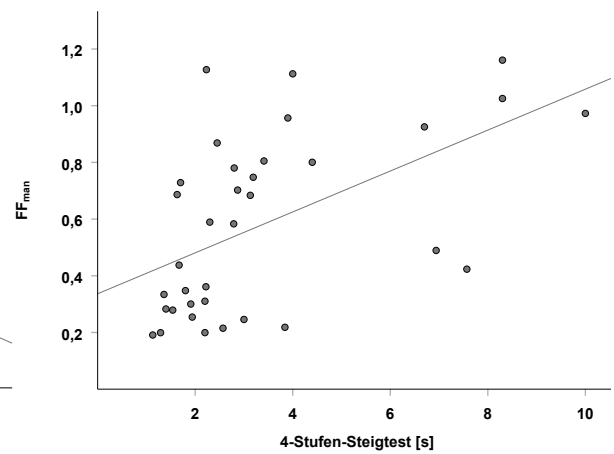


Abbildung 7 – Streudiagramm FF_{man} & 4-Stufen-Steigtest

FF_{man} für L5, Paraspinal, T2, Beobachter 1 und Vier-Stufen-Steigtest

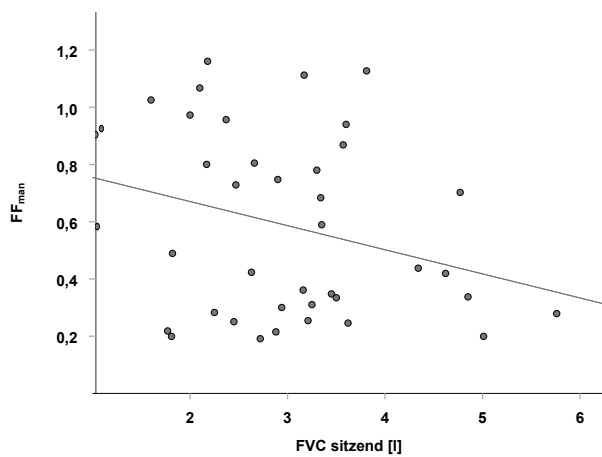


Abbildung 8 – Streudiagramm FF_{man} & FVC_{sitzend}

FF_{man} für L5, Paraspinal, T2, Beobachter 1 und FVC sitzend

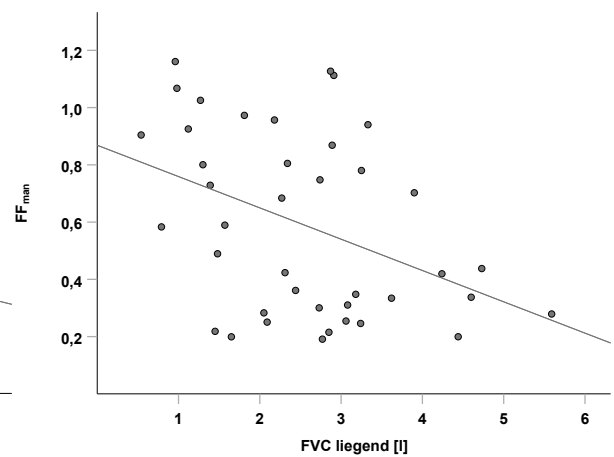


Abbildung 9 – Streudiagramm FF_{man} & FVC_{liegend}

FF_{man} für L5, Paraspinal, T2, Beobachter 1 und FVC liegend

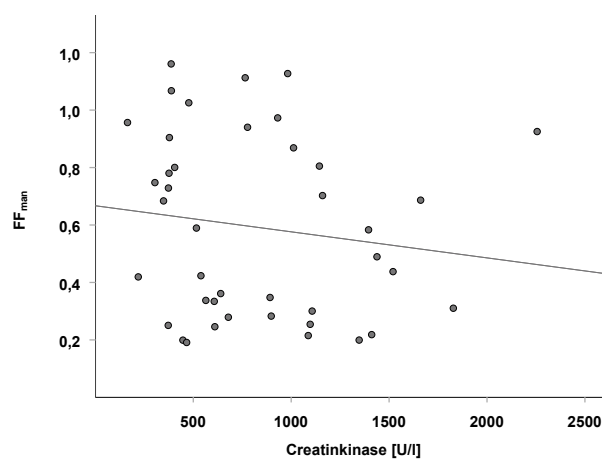


Abbildung 10 – Streudiagramm FF_{man} & Creatinkinase-Werte

FF_{man} für L5, Paraspinal, T2, Beobachter 1 und Creatinkinase-Werte

6.5.3. Klinische Daten und FF_{aut}

FF_{aut} zeigte mit einem p von über 0,5 in allen Messungen eine starke und signifikante Korrelation mit den MRC-Werten für beide Muskelgruppen und Beobachter.

In Tabelle 10 sind die Korrelationen zwischen FF_{aut} und den klinischen Untersuchungen für Beobachter 1 dargestellt. Es wird zwischen Muskelgruppe, Ebene und Wichtung differenziert.

Auch die $FVC_{liegend}$ zeigte einen starken Zusammenhang mit der FF_{aut} des Musculus psoas und einen mäßigen Zusammenhang mit der FF_{aut} der paraspinalen Muskulatur. Die Korrelationskoeffizienten für den Musculus psoas reichten von -0,5 (L5, T2, Beobachter 2, $P = 0,001$) bis -0,59 (L5, T2, Beobachter 1, $P < 0,001$).

Die $FVC_{sitzend}$ korrelierte mäßig mit FF_{aut} (Ausnahme: L3, paraspinale Muskulatur, T2). Es stellte sich eine mittlere Korrelation des Sechs-Minuten-Gehtests und des Vier-Stufen-Steigtests mit FF_{aut} für alle untersuchten Parameter dar. Die Spearman-Korrelationskoeffizienten reichten für den Sechs-Minuten-Gehtest von -0,33 (L5, paraspinaler Muskel, T2, Beobachter 2, $P = 0,04$) bis -0,52 (L3, paraspinaler Muskel, T1, Beobachter 1, $P = 0,001$). Die Korrelationskoeffizienten für den Vier-Stufen-Steigtest lagen zwischen 0,36 (L3, Psoasmuskel, T2, Beobachter 1, $P = 0,009$) und 0,52 (L3, Paraspinalmuskel, T2, Beobachter 2, $P = 0,001$). Schwache bis mittlere Korrelationen wurden zwischen FF_{aut} und $FVC_{sitzend}$ festgestellt. Eine signifikante Korrelation zwischen FF_{aut} und Creatinkinase ließ sich nur für die paraspinale Muskulatur aufzeigen (Ausnahme: L3, paraspinale Muskulatur, T2, Beobachter 1).

	Ebene	Wichtung	6min-Gehtest	4-Stufensteig-Test	FVC sitzend	FVC liegend	Creatinkinase	MRC Score (n = 40)
Psoas - Beobachter 1	L3	T1 (P-Wert)	-0,42 (0,008)	0,43 (0,009)	-0,35 (0,027)	-0,56 (<0,001)	-0,19 (0,226)	-0,59 (<0,001)
		T2 (P-Wert)	-0,39 (0,015)	0,36 (0,030)	-0,34 (0,031)	-0,54 (<0,001)	-0,27 (0,084)	-0,61 (<0,001)
	L5	T1 (P-Wert)	-0,48 (0,002)	0,51 (0,002)	-0,37 (0,019)	-0,56 (<0,001)	-0,26 (0,103)	-0,63 (<0,001)
		T2 (P-Wert)	-0,49 (0,001)	0,44 (0,008)	-0,41 (0,009)	-0,59 (<0,001)	-0,18 (0,248)	-0,69 (<0,001)
Paraspinal - Beobachter 1	L3	T1 (P-Wert)	-0,52 (0,001)	0,45 (0,006)	-0,26 (0,100)	-0,41 (0,009)	-0,31 (0,048)	-0,60 (<0,001)
		T2 (P-Wert)	-0,48 (0,002)	0,43 (0,009)	-0,29 (0,066)	-0,45 (0,004)	-0,24 (0,117)	-0,65 (<0,001)
	L5	T1 (P-Wert)	-0,52 (0,001)	0,50 (0,002)	-0,36 (0,022)	-0,50 (0,001)	-0,28 (0,032)	-0,61 (<0,001)
		T2 (P-Wert)	-0,46 (0,004)	0,40 (0,017)	-0,32 (0,046)	-0,47 (0,002)	-0,34 (0,029)	-0,58 (<0,001)
Psoas - Beobachter 2	L3	T1 (P-Wert)	-0,35 (0,027)	0,43 (0,009)	-0,39 (0,012)	-0,58 (<0,001)	-0,38 (0,014)	-0,64 (<0,001)
		T2 (P-Wert)	-0,41 (0,010)	0,37 (0,026)	-0,35 (0,029)	-0,53 (<0,001)	-0,25 (0,108)	-0,63 (<0,001)
	L5	T1 (P-Wert)	-0,42 (0,009)	0,43 (0,010)	-0,32 (0,046)	-0,51 (0,001)	-0,27 (0,079)	-0,66 (<0,001)
		T2 (P-Wert)	-0,35 (0,027)	0,36 (0,034)	-0,33 (0,041)	-0,50 (0,001)	-0,27 (0,078)	-0,66 (<0,001)
Paraspinal - Beobachter 2	L3	T1 (P-Wert)	-0,41 (0,011)	0,52 (0,001)	-0,24 (0,131)	-0,40 (0,012)	-0,42 (0,006)	-0,56 (<0,001)
		T2 (P-Wert)	-0,42 (0,009)	0,49 (0,003)	-0,28 (0,086)	-0,44 (0,004)	-0,41 (0,007)	-0,59 (<0,001)
	L5	T1 (P-Wert)	-0,33 (0,040)	0,39 (0,019)	-0,16 (0,334)	-0,34 (0,030)	-0,37 (0,019)	-0,54 (<0,001)
		T2 (P-Wert)	-0,41 (0,010)	0,49 (0,003)	-0,23 (0,151)	-0,41 (0,009)	-0,38 (0,013)	-0,55 (<0,001)

Tabelle 10 – Spearmans Korrelationskoeffizient (ρ) für FF_{aut} und klinische Tests

Korrelationen für die Mercuri Scores sowie FF_{aut} mit den klinischen Daten mittels Spearman-Korrelationskoeffizienten (ρ), jeweils für Untersucher 1/2, Ebene L3 und L5 und Musculus psoas und paraspinale Muskulatur beschrieben.

Die Abbildung 11 und 12 zeigen das Streudiagramm für den Sechs-Minuten-Gehtest und den Vier-Stufen-Steigetest in Relation zu FF_{aut} . Parallel hierzu zeigen Abbildung 13 und 14 die Streudiagramme für die Korrelation von FF_{aut} mit FVC_{sitzend} und FVC_{liegend} . Abbildung 15 veranschaulicht die Korrelation zwischen FF_{aut} und der Creatinkinase.

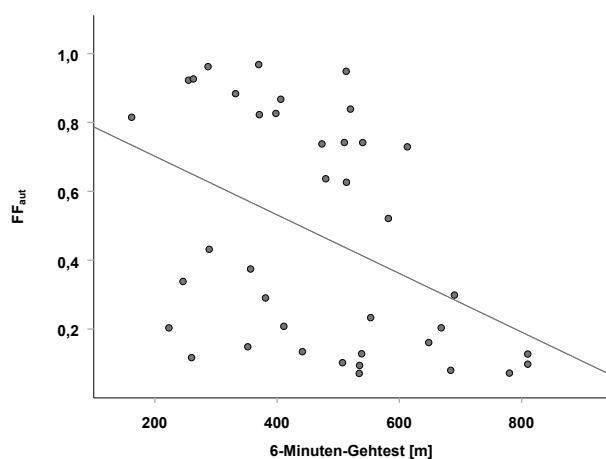


Abbildung 11 – Streudiagramm FF_{aut} & 6-Minuten-Gehtest

FF_{aut} für L5, Paraspinal, T2, Beobachter 1 und 6-Minuten-Gehtest

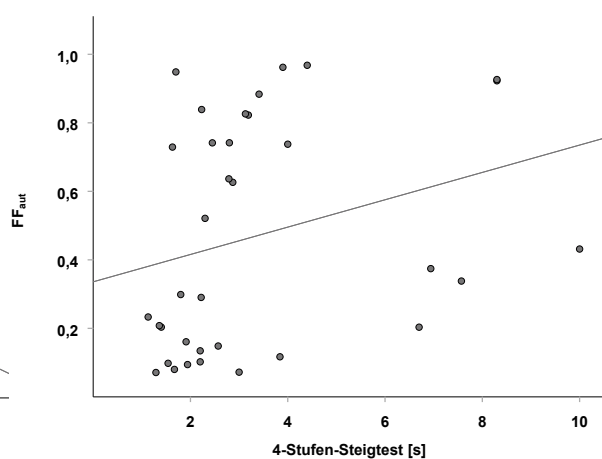


Abbildung 12 – Streudiagramm FF_{aut} & 4-Stufen-Steigetest

FF_{aut} für L5, Paraspinal, T2, Beobachter 1 und 4-Stufen-Steigetest

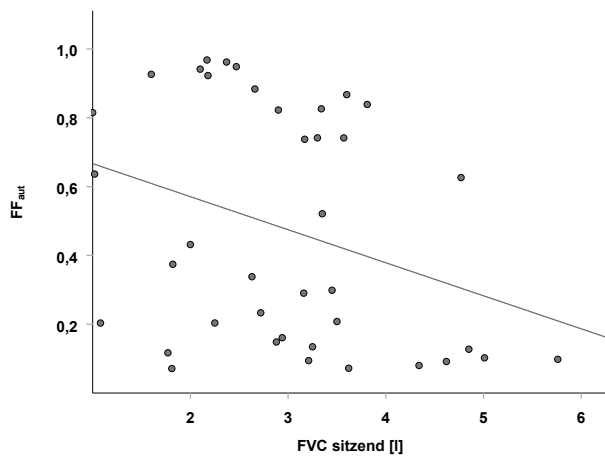


Abbildung 13 – Streudiagramm FF_{aut} & FVC_{sitzend}
 FF_{aut} für L5, Paraspinal, T2, Beobachter 1 und FVC sitzend

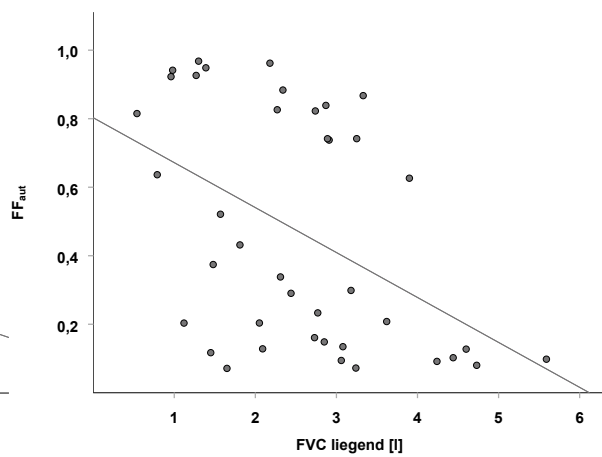


Abbildung 14 – Streudiagramm FF_{aut} & FVC_{liegend}
 FF_{aut} für L5, Paraspinal, T2, Beobachter 1 und FVC liegend

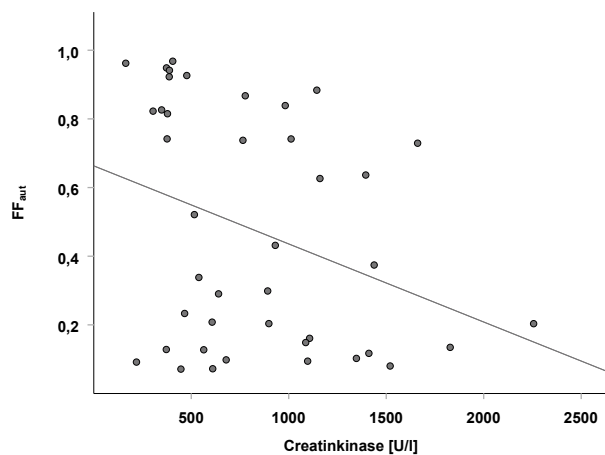


Abbildung 15 – Streudiagramm FF_{aut} & Creatinkinase-Werte
 FF_{aut} für L5, Paraspinal, T2, Beobachter 1 und Creatinkinase-Werte

6.5.4. Mercuri Score und FF_{man}

In unseren Auswertungen zeigte sich eine sehr gute Korrelation zwischen FF_{man} und dem Mercuri Score. Die p-Werte reichten von 0,849 für die paraspinale Muskulatur in Ebene L5 und T2-Wichtung bis 0,898 für den Musculus psoas in Ebene L3 und T2-Wichtung für Beobachter 1. Alle Korrelationen wiesen einen p-Wert <0,001 auf. In Tabelle 11 sind die Werte der Korrelationsanalyse dargestellt.

	Ebene	Gewichtung	ρ
Psoas	L3	T1	0,879
		T2	0,898
	L5	T1	0,887
		T2	0,886
Paraspinal	L3	T1	0,840
		T2	0,898
	L5	T1	0,888
		T2	0,849

Tabelle 11 – Spearmans Korrelationskoeffizient (ρ) für FF_{man} und Mercuri Score

Beschreibung alle p-Werte <0,001 Beobachter 1

Abbildung 16 zeigt exemplarisch die Korrelation zwischen Mercuri Score und FF_{man} für Untersucher 1 auf Ebene L3 in T1-gewichteten Bildern für die paraspinale Muskulatur. Es stellten sich teilweise Überlappungen der quantitativen Ergebnisse für angrenzende Mercuri Scores dar.

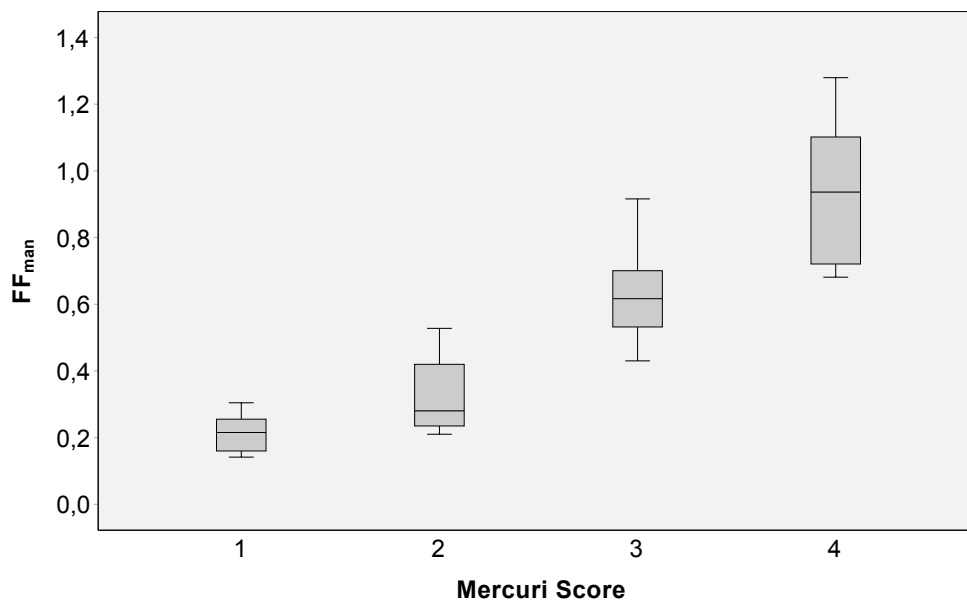


Abbildung 16 – Repräsentative Korrelationen zwischen Mercuri Score und FF_{man}

Daten erhoben von Beobachter 1 für die paraspinale Muskulatur auf der L3-Ebene in T2-Wichtung. Spearmans $\rho = 0,898$ und p-Wert <0,001.

6.5.5. Mercuri Score und FF_{aut}

Die FF_{aut}-Werte korrelierten, wie in Tabelle 12 zu sehen ist, ebenfalls sehr gut mit den Mercuri Scores. Die p-Werte reichten von 0,903 für die paraspinale Muskulatur in Ebene L3 für T2-gewichtete Bilder bis 0,926 für den Musculus psoas in Ebene L5 für T1-gewichtete Bilder mit p-Werten <0,001 für alle Korrelationen.

	Ebene	Gewichtung	p
Psoas	L3	T1	0,921
		T2	0,919
	L5	T1	0,926
		T2	0,919
Paraspinal	L3	T1	0,919
		T2	0,903
	L5	T1	0,919
		T2	0,919

Tabelle 12 – Spearmans Korrelationskoeffizient (p) für FF_{aut} und Mercuri Score
Beschreibung alle p-Werte <0,001 Beobachter 1.

In Abbildung 17 ist beispielhaft die Korrelation der einzelnen Mercuri Scores mit FF_{aut} durch Beobachter 1 für die paraspinale Muskulatur in Ebene L5 in T1-Wichtung abgebildet. Auch hier lässt sich teilweise eine Überlappung der quantitativen Ergebnisse für angrenzende Mercuri Scores beobachten.

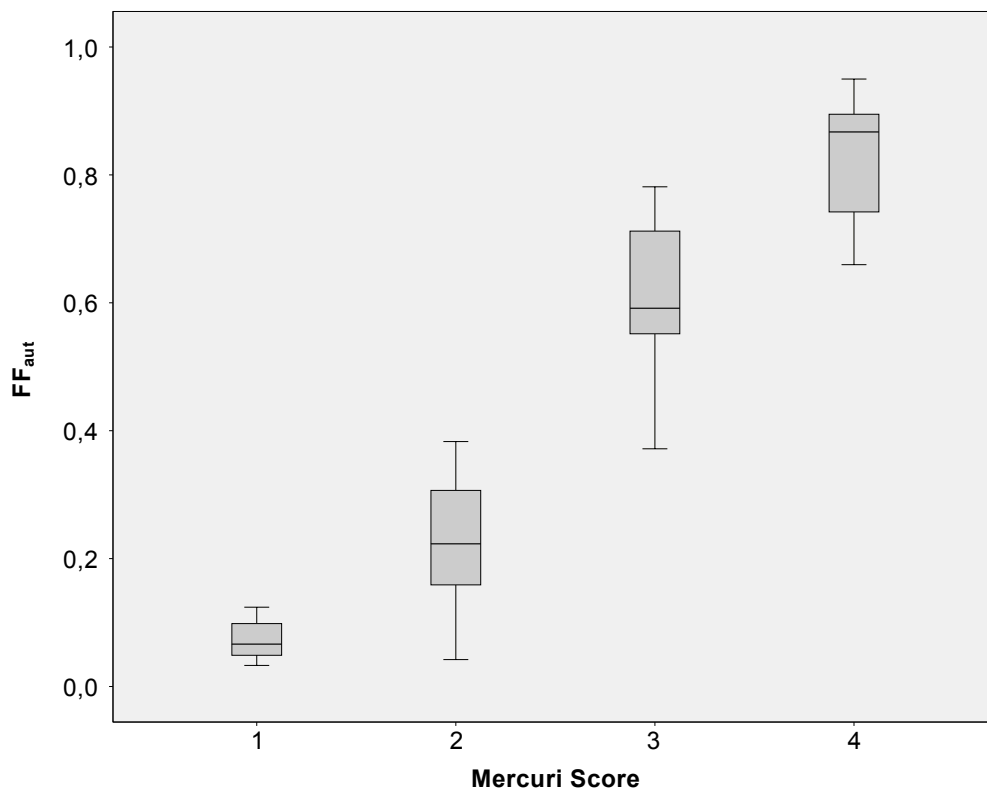


Abbildung 17 – Repräsentative Korrelationen zwischen Mercuri Score und FF_{aut}

Daten erhoben von Beobachter 1 für den paraspinalen Muskel auf der L5-Ebene mit T1-Wichtung. Spearmans $\rho = 0,919$ und p-Wert $<0,001$.

6.5.6. FF_{man} und FF_{aut}

Die Korrelation zwischen FF_{aut} und FF_{man} ist in Tabelle 13 exemplarisch für Beobachter 1 dargestellt. Die Pearson Korrelationskoeffizienten lagen zwischen 0,86 (Beobachter 1, L5, T2) und 0,91 (Beobachter 1, L3, T2) mit $P < 0,001$ und weisen eine gute bis ausgezeichnete Korrelation auf.

	Ebene	Gewichtung	r (p-Wert)
Psoas	L3	T1	0,904 (<0,001)
		T2	0,906 (<0,001)
	L5	T1	0,882 (<0,001)
		T2	0,903 (<0,001)
Paraspinal	L3	T1	0,892 (<0,001)
		T2	0,903 (<0,001)
	L5	T1	0,879 (<0,001)
		T2	0,857 (<0,001)

Tabelle 13 – Korrelation FF_{man} und FF_{aut}

Pearson Korrelationskoeffizienten (r) für Beobachter 1 auf L3-/L5-Ebene für T1-/T2-Wichtung.

Unter Verwendung von Steigers Z ließ sich mit durchschnittlichen p-Werten weit über der 5% Signifikanzgrenze kein Unterschied zwischen den Korrelationen von FF_{man} und FF_{aut} mit MRC beobachten (Ausnahme: Paraspinal, L5, T2).

	Ebene	Gewichtung	Steigers Z (p-Wert)
Psoas	L3	T1	-1,09 (0,278)
		T2	-1,76 (0,079)
	L5	T1	-0,87 (0,382)
		T2	-0,62 (0,533)
Paraspinal	L3	T1	0,17 (0,862)
		T2	-0,4 (0,689)
	L5	T1	-1,26 (0,208)
		T2	-2,42 (0,016)

Tabelle 14 – Steigers Z für MRC mit FF_{man} und FF_{aut}

Korrelation von MRC mit FF_{man} und FF_{aut} mit p-Werten für den zweiseitigen t-Test, um einen Unterschied von abhängigen Korrelationen zu prüfen ($n=40$).

6.6. Follow-Up unter Enzyersatztherapie

Der Verlauf der klinischen Daten und der MRT-basierten FF_{aut} -Werte, welche im Rahmen der Folgeuntersuchungen gesammelt wurden, ist in Tabelle 15 dargestellt. Im Sechs-Minuten-Gehtest und Vier-Stufen-Steigtest zeigte sich eine deutliche Abnahme der Leistung zwischen der initialen Messung und der ersten Folgeuntersuchung. Im Verlauf bis zur zweiten Folgeuntersuchung wurde kein weiterer Rückgang festgestellt. Im gesamten Beobachtungszeitraum nahm die Creatinkinase signifikant ab.

Korrespondierend zu den klinischen Ergebnissen ließ sich eine signifikante Zunahme der FF_{aut} des Musculus psoas im Rahmen der ersten Folgeuntersuchungen beobachten, wobei sich zwischen erster und zweiter Nachuntersuchung keine weitere statistisch signifikante Veränderung zeigte.

	Gruppe 1 - Patienten die an FU1 teilnahmen (n = 13)		Gruppe 2 - Patienten die an FU2 teilnahmen (n = 7)			
	Baseline	FU1 vs. Baseline	Baseline	FU1 vs. Baseline	FU2 vs. Baseline x	FU2 vs. FU1 x
6min-Gehtest [m]	503 ± 126	-53 ± 46	508 ± 133	-59 ± 54	-40 ± 82 ^c	6 ± 25
<i>P-Wert</i>	-	0,006	-	0,043	0,345	0,893
4-Stufensteig-Test [s]	3,1 ± 2,4 ^a	1,2 ± 2,2	3,5 ± 3,3 ^b	1,4 ± 2,8 ^b	0,4 ± 0,7 ^c	0,2 ± 0,7 ^c
<i>P-Wert</i>	-	0,034	-	0,075	0,465	0,715
FVC sitzend [l]	2,9 ± 0,7	0,2 ± 0,6	2,7 ± 0,7	0,3 ± 0,6	0,1 ± 1,1	-0,2 ± 0,7
<i>P-Wert</i>	-	0,328	-	0,398	1,000	0,310
FVC liegend [l]	2,5 ± 0,7	0,1 ± 0,8	2,5 ± 0,6	0,2 ± 0,7	0,1 ± 1	-0,1 ± 0,5
<i>P-Wert</i>	-	0,972	-	0,735	0,31	0,31
Creatinkinase [U/l]	785 ± 273	-209 ± 224	848 ± 215	-359 ± 161	-424 ± 186	-65 ± 70
<i>P-Wert</i>	-	0,016	-	0,018	0,018	0,063
FF_{aut} Psoas	0,36 ± 0,37	0,05 ± 0,09	0,23 ± 0,24	0,04 ± 0,06	0,1 ± 0,14	0,06 ± 0,14
<i>P-Wert</i>	-	0,016	-	0,091	0,063	0,499
FF_{aut} Paraspinal	0,56 ± 0,39	0,03 ± 0,1	0,47 ± 0,41	0,06 ± 0,14	0 ± 0,08	-0,06 ± 0,1
<i>P-Wert</i>	-	0,753	-	0,866	0,735	0,176
Mercuri Psoas	2,1 ± 1,3	0,2 ± 0,4	1,6 ± 0,8	0,3 ± 0,5	0,6 ± 0,8	0,3 ± 0,5
<i>P-Wert</i>	-	0,083	-	0,157	0,102	0,157
Mercuri Paraspinal	2,7 ± 1,4	0,2 ± 0,4	2,3 ± 1,4	0,4 ± 0,5	0,4 ± 0,5	0 ± 0
<i>P-Wert</i>	-	0,083	-	0,083	0,083	1,000

Tabelle 15 – Ergebnisse der Follow-Up-Untersuchungen unter ERT

Baseline Werte und Veränderung gegenüber der Baseline (ausgewertet als Mittelwert ± Standardabweichung) für Patienten mit einer (Gruppe 1) und zwei (Gruppe 2) Follow-Up-Untersuchungen.

^a n = 12

^b n = 6

^c n = 5

Zusätzlich wurde ein Patient mit Erstdiagnose des Morbus Pompe im Alter von 70 Jahren jährlich untersucht, um die Bedeutung der hier beschriebenen Methode zu veranschaulichen. Dieser Patient erhielt auf eigenen Wunsch keine Enzymersatztherapie. Bei dem Patienten war bereits bei initialer Vorstellung der Musculus psoas vollständig degeneriert, die FF_{aut} der paraspinalen Muskulatur nahm jedoch linear von 0,38 bei Ausgangsuntersuchung auf 0,74 nach fünf Jahren zu. Der Fortschritt der FF_{aut} ist in Abbildung 18 dargestellt.

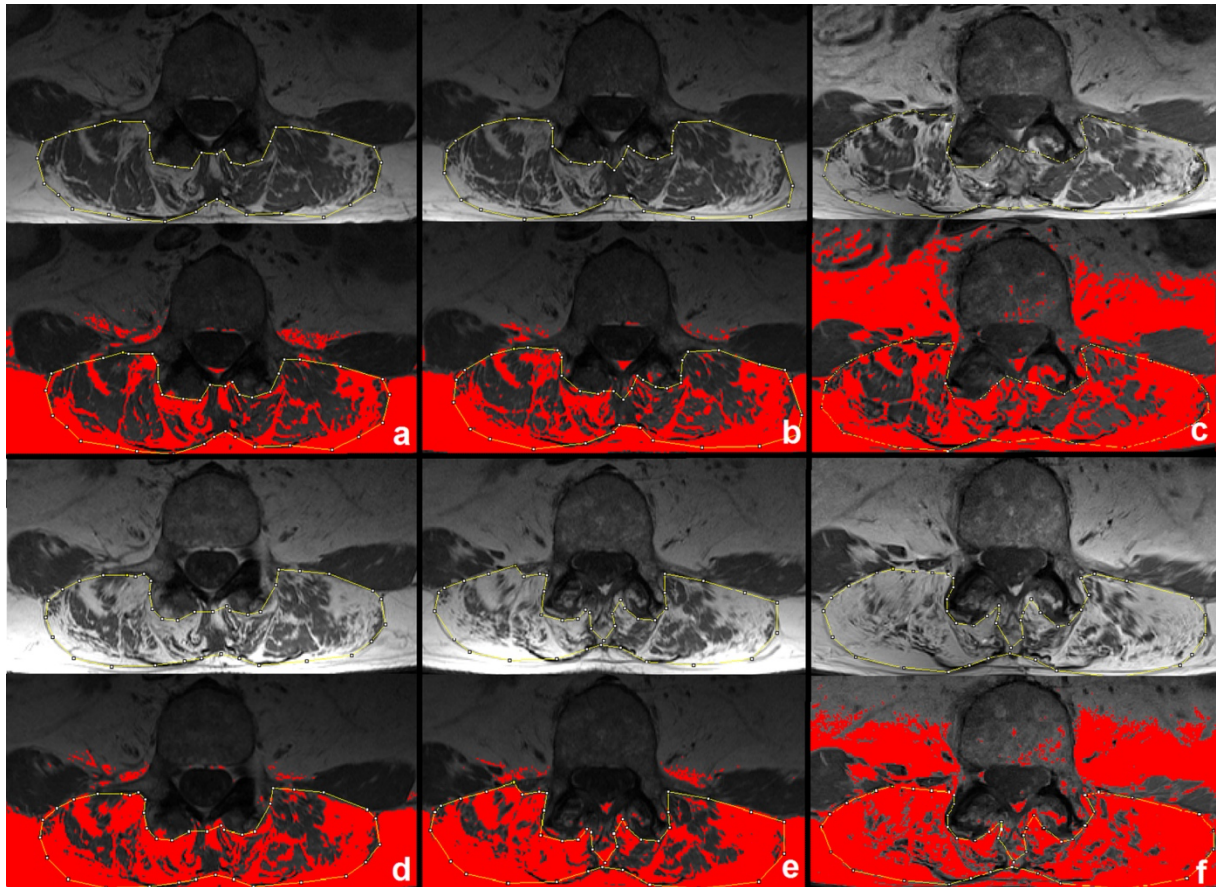


Abbildung 18 – Verlauf der FF_{aut} der paraspinalen Muskelgruppe

Es werden Bilder gezeigt, die zu Beginn (Panel a) und bei der jährlichen Nachsorge (Panel b-f) aufgenommen wurden. Der verfettete Anteil des Muskels ist rot gefärbt. Der Fettanteil stieg von 0,38 (Panel a) über 0,46 (b), 0,53 (c), 0,57 (d), 0,66 (e) auf 0,74 (f).

In Tabelle 16 sind die jeweiligen FF_{aut} -Werte der initialen Untersuchung sowie die Veränderungen der FF_{aut} -Werte zwischen initialer Untersuchung und erster Folgeuntersuchung, nach einem Median von 39 Monaten, bzw. erster und zweiter Folgeuntersuchung, nach einem Median von 63 Monaten, für die einzelnen Patienten individuell aufgeführt. Diese sind nach Muskulatur unterschieden.

Es lässt sich für die Patienten mit Folgeuntersuchungen, die zuvor beschrieben durchschnittlich höheren FF_{aut} -Werte der paraspinalen Muskulatur gegenüber des Musculus psoas auch auf individueller Ebene beobachten.

Für die erste Folgeuntersuchung zeigte sich, mit Ausnahme eines Patienten, ein Anstieg der muskulären Verfettung für den Musculus psoas. Hingegen stellten sich unterschiedliche Verläufe für die paraspinale Muskulatur dar, bei fünf Patienten kam es zu einer Zunahme und bei acht Patienten zu einer Abnahme der FF_{aut} .

In der zweiten Folgeuntersuchung ergaben sich für den Musculus psoas für Patienten mit initialer niedriger FF_{aut} eine Abnahme der muskulären Verfettung, wohingegen sich bei Patienten mit im Vergleich initial höherer FF_{aut} eine weitere Zunahme der muskulären Verfettung zeigte. Die paraspinale Muskulatur wies in der zweiten Folgeuntersuchung eine nahezu konstante bis reduzierte FF_{aut} auf.

Patient	Psoas U1	Paraspinal U1	Monate nach U1	± Psoas U1-FU1	± Paraspinal U1-FU1	Monate nach U1	± Psoas FU1-FU2	± Paraspinal FU1-FU2
2	0,04	0,17	42	+0,09	+0,23	55	-0,05	-0,09
38	0,04	0,07	24	+0,01	+0,02	-	-	-
26	0,05	0,07	37	+0,01	-0,02	50	-0,02	+0,01
6	0,06	0,08	36	+0,01	-0,01	70	-0,04	-0,03
32	0,07	0,24	36	-0,01	-0,03	-	-	-
1	0,08	0,39	43	+0,08	+0,29	54	-0,01	-0,27
5	0,15	0,83	38	+0,29	-0,01	-	-	-
35	0,35	0,77	50	+0,02	+0,02	79	+0,33	+0,01
13	0,37	0,95	50	+0,10	-0,07	63	+0,14	+0,00
9	0,68	0,98	39	-0,07	-0,04	83	+0,10	-0,06
11	0,85	0,91	39	+0,00	-0,06	-	-	-
41	0,93	0,89	34	+0,06	+0,05	-	-	-
20	0,96	0,99	41	+0,02	-0,05	-	-	-

Tabelle 16 – Veränderung der FF_{aut} -Werte von U1 bis FU2

Darstellung der FF_{aut} -Werte jeweils für die einzelnen Patienten für Untersucher 1 in T1-gewichteten Bildern, L3-L5 gemittelt. Für U1 $FF_{\text{aut}} = 0$: weiß, $FF_{\text{aut}} \geq 0,1$: rot. Folgeuntersuchung FU1: $FU1-FU2 \geq 0,1$: rot bzw. $FU1-FU2 \leq -0,1$: grün; basierend auf nicht gerundeten Zahlen (FU1: n=13; FU2: n=7).

In Abbildung 19 ist der Verlauf von FF_{aut} jeweils für die einzelnen Patienten für den Musculus psoas und in Abbildung 20 für die paraspinale Muskulatur graphisch aufgeführt.

Es zeigte sich im Rahmen der ersten Folgeuntersuchungen unter ERT für den Musculus psoas, wie bereits oben beschrieben, eine Zunahme des muskulären Fettanteils bei fast allen Patienten (Ausnahme: Patient 9). Im weiteren Verlauf stellten sich bei der zweiten Folgeuntersuchung unterschiedliche Tendenzen dar. Bei Patienten mit initial leichtgradiger Muskelverfettung konnte ein Rückgang der FF_{aut}

dokumentiert werden. Bei Patienten, die bereits bei der initialen Untersuchung eine ausgeprägte Muskelverfettung aufwiesen, zeigte sich auch im Rahmen der ersten und zweiten Folgeuntersuchung ein kontinuierlicher Progress der Muskelverfettung.

Die FF_{aut} der paraspinalen Muskulatur nahm bei den meisten Patienten bereits in der ersten Folgeuntersuchung ab und stabilisierte bzw. verbesserte sich in der zweiten Folgeuntersuchung.

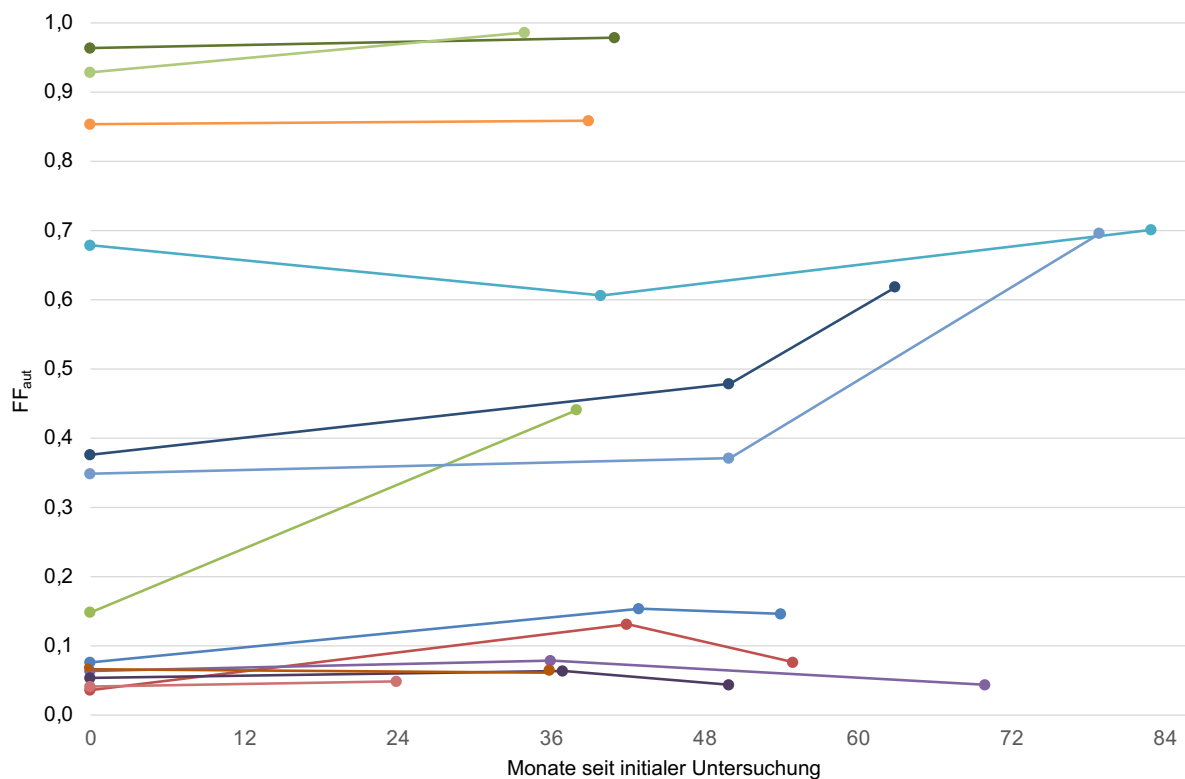


Abbildung 19 – Verlauf von FF_{aut} unter ERT für den Musculus psoas

FF_{aut} -Werte für Patienten mit mindestens einer Follow-Up-Untersuchung ($n = 13$) von Beobachter 1 über Monate im Verlauf seit der ersten Untersuchung für den Musculus psoas T1-Wichtung, L3-L5 gemittelt.

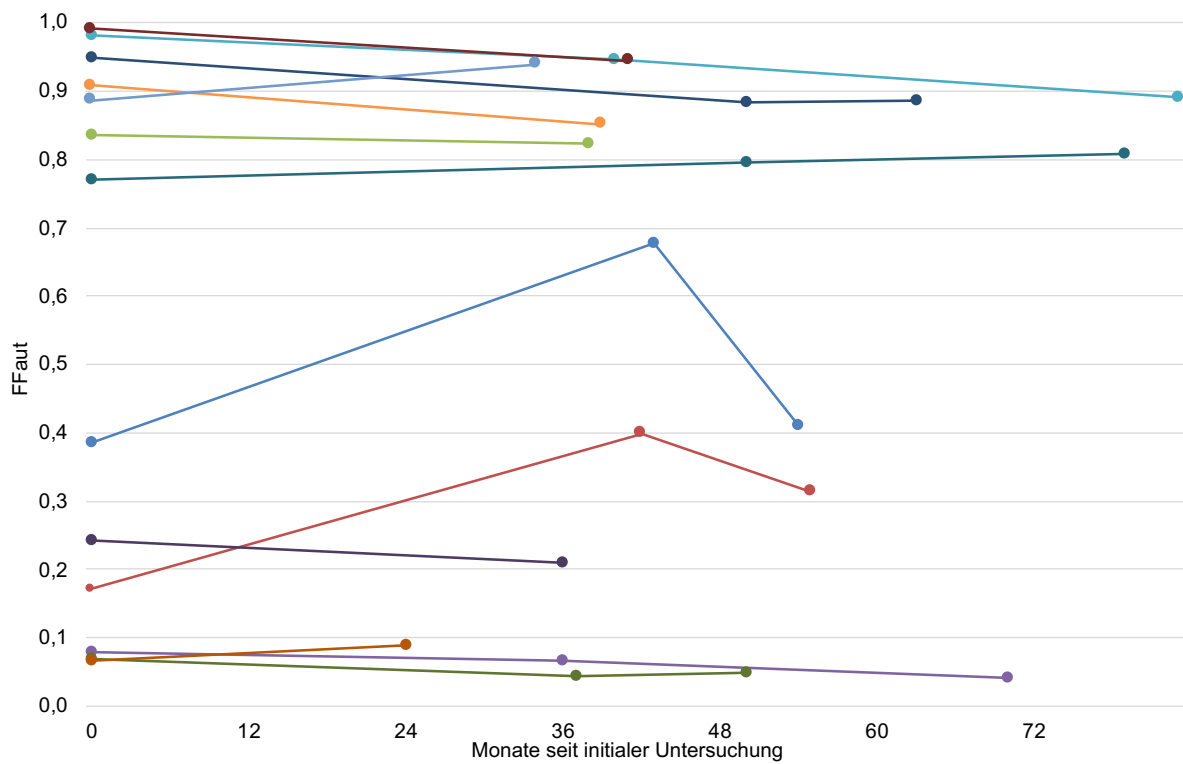


Abbildung 20 – Verlauf von FF_{aut} unter ERT für die paraspinale Muskulatur

FF_{aut}-Werte für Patienten mit mindestens einer Follow-Up-Untersuchung (n = 13) von Beobachter 1 über Monate im Verlauf seit der ersten Untersuchung die paraspinale Muskulatur T1-Wichtung, L3-L5 gemittelt.

7. Diskussion

Mit der Fähigkeit, die Muskeldegeneration aufzuhalten oder zu verzögern, ist die Enzyersatztherapie zu einem wertvollen Instrument bei der Behandlung des LOPD geworden (4). Die klinische Bewertung des Therapieerfolges stützt sich in erster Linie auf Tests der Muskelkraft (204), obwohl sich hiermit keine expliziten morphologischen Veränderungen der Muskulatur erkennen lassen. Ergänzend können invasive Muskelbiopsien durchgeführt werden. Diese sind möglicherweise nicht repräsentativ für die Reaktion des gesamten Muskels bzw. anderer Muskeln.

Kraft- und Funktionstests sind grundsätzlich wichtige klinische Instrumente zur Überwachung des Krankheitsverlaufs in Bezug auf die betroffenen Muskelgruppen und entscheidend für das Verständnis der Pathologie der Krankheit (5). Diese Tests sind jedoch von der Motivation und Compliance der Testpersonen abhängig. Besonders bei Kindern kann dies eine Herausforderung darstellen. Darüber hinaus sind Funktionstests in den späteren Krankheitsstadien durch den kontinuierlichen Progress der Erkrankung eingeschränkt. Alternative klinische oder morphologische Marker sind erforderlich, um das Ansprechen auf die Behandlung zu beurteilen und umfassende Informationen über Veränderungen der Zusammensetzung der Muskulatur im Krankheitsverlauf zu liefern.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Methoden evaluiert, die auf T1- und T2-gewichteten MRT-Bildern basieren und es erlauben, die muskulären Veränderungen im Krankheitsverlauf sowie unter Enzyersatztherapie zu beurteilen. Um den Verlauf über einen möglichst großen Zeitraum bewerten zu können, ist es von Vorteil auch ältere Aufnahmen, welche im Rahmen der regelmäßigen Verlaufskontrollen angefertigt wurden, in die Beurteilung einzuschließen. Unsere Verfahren eignen sich besonders dafür, ältere Daten retrospektiv in die Analyse miteinzubeziehen und ein aussagekräftiges Urteil über den Verlauf zu fällen.

7.1. Magnetresonanztomographie

Die MRT bietet einen hohen Weichteilkontrast und gilt daher als die genaueste Bildgebungstechnologie zur Darstellung von Muskel- oder Fettgewebe (7, 8).

In mehreren Studien wurde bereits über ihren Einsatz als nützliche nicht-invasive Technik zur Beurteilung von neuromuskulären Erkrankungen berichtet (167, 179-182). Sie wurde ebenfalls erfolgreich zur Untersuchung des Krankheitsstatus bei Patienten mit Morbus Pompe angewendet (161). Die typischen Merkmale der Muskelatrophie, wie eine Abnahme des Muskelvolumens und eine Infiltration der Muskeln durch Fett- und Bindegewebe, können mittels MRT untersucht werden (172). So lässt sich mit Hilfe der Methode das typische, selektiv voranschreitende Muster der Muskelbeteiligung bei Patienten mit Morbus Pompe genau evaluieren (172).

Andere radiologische Bildgebungsverfahren wie Ultraschall oder CT bieten den Vorteil einer deutlich kürzeren Untersuchungszeit. Eine hohe Untersucherabhängigkeit bzw. die Notwendigkeit ionisierender Strahlung sprechen jedoch gegen diese Verfahren im Rahmen regelmäßiger Verlaufskontrollen (72, 164, 165).

Die MRT ist aufgrund ihres höheren Weichteilkontrastes bei der Erkennung unterschiedlicher Signalintensitätswerte von Fett und Muskel empfindlicher als die CT (168). Ein Vorteil der MRT gegenüber der Ultraschall-Bildgebung ist die bessere Lokalisierungsmöglichkeit der Untersuchungsebene bei sich wiederholenden Untersuchungen mit Hilfe konstanter und leicht erkennbarer Orientierungspunkte. Hierzu eignen sich vor allem die Wirbelkörper als Höhenangabe, wodurch die Untersuchungsebenen exakt ausgewählt werden können (162).

Zudem sind die Intra- und Inter-Beobachter-Reliabilität bei der Beurteilung von MRT-Bildern höher als bei der Beurteilung von CT-Bildern (172).

Die MRT ist eine leicht zugängliche Technik, die eine umfassende Analyse der verschiedenen Ebenen jedes Muskels ermöglicht.

7.2. Auswertungsmethode

In unserer Studie evaluierten wir zwei Methoden zur Quantifizierung der Muskeldegeneration und des Ersatzes durch Fett, die auf häufig verwendeten (Turbo-) Spin-Echo-MRT-Sequenzen basieren.

Sowohl die manuelle als auch die teilautomatische Methode zur Bestimmung des muskulären Fettanteils wurde in unserer Untersuchung an einem großen Kollektiv von

Patienten mit LOPD unter Verwendung konventioneller T1- und T2-gewichteter Bilder angewandt. Bisher wurden diese Methoden vor allem bei degenerativen Wirbelsäulenerkrankungen wie zum Beispiel symptomatischen Bandscheibenvorfällen mit Schmerzen im unteren Rückenbereich eingesetzt.

Es zeigte sich zusätzlich zu der bereits berichteten hohen Intra-Beobachter-Zuverlässigkeit (11, 183, 195) eine hohe Inter-Beobachter-Übereinstimmung und gute Korrelationen mit den klinischen Daten.

Die untersuchten Methoden lassen sich leicht auf die Klinik übertragen, da sie auf konventionellen MRT-Sequenzen basieren und die Auswertung mittels frei verfügbarer Bildverarbeitungssoftware möglich ist. Zudem ergibt sich im Vergleich zum Mercuri Score der Vorteil, dass die relativ großen Intervalle der Fettfraktionen in einer Kategorie des Mercuri Scores mit einer prozentualen und daher präziseren Skala ausgedrückt werden.

Die Übereinstimmung zwischen den Beobachtern signalisiert die Reliabilität der Methodik. Diese war für den Mercuri Score ($\kappa = 0,89$ für Musculus psoas) sowie für FF_{man} gut ($ICC=0,88$) und für FF_{aut} ($ICC=0,96$) sehr gut ($P < 0,001$). Die halbautomatische Methode war der manuellen Signalintensitätsmessung somit in diesem Punkt überlegen. Dies lässt sich in erster Linie auf die Feldinhomogenität zurückführen, welche eine hohe Variation der Signalintensität, insbesondere im subkutanen Fettgewebe, verursachte (209). Ein weiterer Einflussfaktor war, dass die Menge an Referenzfett bei Patienten mit niedrigem Körpergewicht häufig ebenfalls gering war. Dies begründete unter anderem die größeren Variationen der Referenzen für die Signalintensität von Fett.

Bei der histographischen FF_{man} -Bestimmung unterschieden sich vor allem die Messungen für SI_{Fett} zwischen den Beobachtern, wohingegen die Messungen für SI_{Muskel} sehr gut korrelierten. Gegebenenfalls hilft die Spezifizierung der Messmethode zur Bestimmung der SI_{Fett} die Korrelation zwischen den Untersuchern zu verbessern und die Messmethode verlässlicher zu gestalten.

Die Auswahl des Bildanalyseprogrammes ImageJ für die FF_{aut} -Berechnung erfolgte im Hinblick auf eine freie Zugänglichkeit sowie eine verlässliche, einfache und schnelle Untersuchung. Im Rahmen eines Vergleiches der am weitesten verbreiteten Analyseprogramme ergab sich eine deutlich kürzere Bearbeitungszeit pro Messung

bei gleicher Inter- und Intra-Beobachter-Zuverlässigkeit für ImageJ (183). Unsere Untersuchungen zeigten, übereinstimmend mit den Ergebnissen anderer Studien, eine gute Korrelation für die Messungen der CSA mit einem durchschnittlichen ICC von 0,82 ($P < 0,001$) und eine sehr gute Korrelation für die Ergebnisse der FF_{aut} , wie oben bereits beschrieben (162, 176, 183-185, 194).

7.3. Untersuchungsparameter

7.3.1. Ebene

Die Unterschiede von FF_{man} und FF_{aut} zwischen den Ebenen L3 und L5 waren für die untersuchten Parameter nicht signifikant. Bei der Messung von FF_{aut} stellte sich im Vergleich zu FF_{man} der Unterschied etwas geringer dar. Bei der Bestimmung von CSA, FCSA und SI_{Fett} (nicht SI_{Muskel}) ergab sich für die L5-Ebene eine höhere Übereinstimmung zwischen den Beobachtern. In den resultierenden $FF_{\text{man/aut}}$ -Werten glichen sich diese jedoch durch die Berechnungsmethode aus. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass Messungen in jeder beliebigen Bildschicht zuverlässig durchgeführt werden können. Somit kann auch ein Mittelwert mehrerer Schichten berechnet werden, um eine Gesamtbewertung vorzunehmen. Dies könnte gegen die Verwendung von T2-gewichteten Sequenzen sprechen, da sich hier eine größere Variabilität zwischen L3 und L5 aufzeigte (Tabelle 3 und 5).

7.3.2. Wichtung

In der Literatur besteht Uneinigkeit darüber, ob T1- oder T2-gewichtete Bilder bei der Beurteilung der fettigen Muskeldegeneration durch konventionelle MR-Sequenzen zu bevorzugen sind. Während die Mehrheit der Autoren T1-gewichtete Sequenzen präferiert (9, 210-212), verwendeten einige Autoren T2-gewichtete Bilder (183, 194).

Im Rahmen unserer Untersuchungen zeigte sich sowohl für T1- als auch für T2-gewichtete Bilder eine ähnlich gute Zuverlässigkeit und Korrelation von FF_{man} und FF_{aut} mit den klinischen Ergebnissen.

Die Unterschiede der resultierenden Korrelationskoeffizienten für FF_{man} und FF_{aut} zwischen T1- und T2-gewichteten Aufnahmen reichten von 10% für FF_{man} bis 6% für FF_{aut} (Tabelle 4 und 6). Dies war zwar statistisch signifikant, aber in absoluten Zahlen gering und daher von begrenzter klinischer Bedeutung.

Bei der Korrelation des muskulären Fettanteils mit den klinischen Daten ergaben sich bei FF_{man} -Werten für T2-gewichtete Bilder und bei FF_{aut} -Werten für T1-gewichtete Bilder eine stärkere Korrelation.

Die FF_{man} -Werte waren für T2-gewichtete Bilder niedriger als für T1-gewichtete Bilder. Die Werte für T2-gewichtete Bilder hatten außerdem einen etwas niedrigeren mittleren ICC im Vergleich zu den T1-gewichteten Bildern.

Für die FF_{aut} -Messungen ergab sich ein gegenteiliges Ergebnis. Hier zeigte sich ein etwas niedriger Fettanteil der Muskulatur in den T1-gewichteten Bildern im Vergleich zu den T2-gewichteten Aufnahmen. Die mittleren ICCs für die teilautomatisierte Messung waren nahezu identisch zwischen T1- und T2-gewichteten Bildern.

Grundsätzlich haben T2-gewichtete Bilder die Eigenschaft, die fettige Muskeldegeneration zu überschätzen, da sowohl Fett als auch zum Beispiel entzündliche Ödeme oder Glykogen hyperintens erscheinen. Andererseits kann es jedoch sein, dass T1-gewichtete Bilder die Muskelmasse überschätzen, da wasserhaltige Komponenten isointens zum Muskelgewebe erscheinen (161).

Aufgrund dieser möglichen Interferenzen können gegebenenfalls, wie es sich für die FF_{aut} -Werte zeigte, in T2-gewichteten Bildern etwas höhere Werte der Fettinfiltration resultieren. Für die Messung von FF_{man} mittels Signalintensitäten spiegelt sich diese Vermutung jedoch in unseren Ergebnissen nicht wider.

Die sich in unserer Auswertung ergebenden Unterschiede für die FF_{man} -Werte zwischen den T1- und T2-gewichteten Bildern sind methodisch bedingt.

Sowohl in T1- als auch in T2-gewichteten Bildern stellt sich Fettgewebe normalerweise hyper- und Muskelgewebe hypointens dar. Die Stärke der Signalintensitäten für Muskel- und Fettgewebe unterscheiden sich jedoch zwischen den beiden Wichtungen.

Entscheidend für die unterschiedlichen Ergebnisse der beiden Wichtungen ist die überproportionale Verringerung der Signalintensität von Muskel im Vergleich zu Fett in T2-gewichteten im Vergleich zu T1-gewichteten Bildern. Dies führt verhältnismäßig zu einem geringeren FF_{man} -Wert in der T2-Wichtung, da der Zähler in der Formel zur Berechnung von FF_{man} ($SI_{\text{Muskel}}/SI_{\text{Fett}}$) bei T2-gewichteten Aufnahmen überproportional viel kleiner als bei T1-gewichteten Bildern ist.

Für die Bestimmung von FF_{aut} spielen die absoluten Signalintensitäten keine bedeutende Rolle. Die Differenzierung zwischen Fett und Muskel erfolgt nicht anhand einer prozentualen Bestimmung, sondern mit Hilfe eines festgelegten Schwellenwertes, der, unabhängig von den prozentualen Differenzen zwischen den Signalintensitäten für Fett und Muskel, eine Einteilung vornimmt.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen zeigten, dass sowohl T1- als auch T2-gewichtete Sequenzen degenerative Veränderungen sehr zuverlässig erkennen.

Zusammengefasst implizieren diese Daten, dass entweder eine T1- oder T2-gewichtete Bildgebung verwendet werden kann, wenn sie einheitlich angewendet wird. Dies stimmt mit den Erkenntnissen vorangegangener Studien überein (4).

In der Literatur wurde berichtet, dass T1-gewichtete Bilder für eine genaue diagnostische Beurteilung der meisten myopathischen Erkrankungen ausreichend sind (9). Dies ließ sich auch anhand der Daten in dieser Arbeit für Patienten mit LOPD belegen. T2-gewichtete Bilder können bei der Erkennung von Muskelödemen hilfreich sein. Bei Patienten mit Morbus Pompe ist dies jedoch klinisch nicht relevant (167), weshalb die Beschränkung auf T1-gewichtete Bilder die Untersuchungszeit verkürzen könnte. Hiervon würden beispielsweise Patienten mit respiratorischen Problemen profitieren.

7.3.3. Feldinhomogenität

Die wichtigste technische Einschränkung bei der Verwendung von TSE-Sequenzen zur Fettdetektion ist das Auftreten von Feldinhomogenitäten, welche eine hohe Variabilität der Signalintensitäten verursachen. Die Rate an Feldinhomogenitäten steigt mit zunehmender Feldstärke an und kann bei 3T bis zu 80% betragen (213). Darüber hinaus erfordert die Methode eine klare Trennung von Muskel und Fett. Dies

kann sich in stark fett-infiltrierten Muskeln schwierig gestalten, da die einzelnen Voxel jeweils einen unterschiedlich großen Anteil an Fett enthalten können. Dies erhöht wiederum die Variabilität der Signalintensitäten.

Feldinhomogenitäten sind zudem für hohe Unterschiede in der Signalintensität des subkutanen Fettgewebes verantwortlich, welches zum Beispiel von Mhuiris et al. als Referenz zur Bestimmung der FCSA verwendet wurde (195). Da in dieser Studie der Referenzbereich für die Bestimmung der SI_{Fett} sehr klein war, stellt die Feldinhomogenität eine besonders große limitierende Variable dar.

Im Gegensatz hierzu ist die in dieser Arbeit angewandte Methode zur Bestimmung der SI_{Fett} deutlich verlässlicher. Die Variabilität der Signalintensitäten wurde dadurch kompensiert, dass der ausgewählte Bereich zur Analyse der SI_{Fett} eine ähnliche Größe und vertikale Ebene im Verhältnis zur evaluierten Muskulatur hatte. Dennoch zeigte sich auch in unserer Studie bei dieser Methode eine deutliche Varianz der Messergebnisse zwischen den Untersuchern. Daraus ergaben sich dementsprechend geringere ICC-Werte.

Der große Vorteil der hier verwendeten Methode für die Bestimmung der FF_{aut} ist, dass die Feldinhomogenitäten durch die Definition eines intra-individuellen Schwellenwertes im Untersuchungsgebiet und die anschließende binäre Zuordnung eines einzelnen Voxels zu Fett oder Muskel ausgeglichen werden.

In neuen Studien wurde die Quantifizierung von intramuskulärem Fett mit Dixon-Wasser- und Fettseparationstechniken (11, 212) oder T2-Quantifizierung (214) untersucht. Beispielsweise wurde eine ausgezeichnete Inter-Beobachter- und Intra-Beobachter-Genauigkeit bei Patienten mit Gliedergürtel-Muskeldystrophie 21 nachgewiesen (209).

Dem Vorteil der höheren Genauigkeit der Dixon-MR-Sequenzen gegenüber der konventionellen Bildgebung stehen Nachteile wie die nicht vorhandene retrospektive Verfügbarkeit sowie deutlich längere Akquisitionszeiten entgegen. Diese stellen besonders für Patienten mit LOPD, die vor allem in späteren Stadien an einer respiratorischen Insuffizienz leiden, einen großen Nachteil dar. Dennoch sollten diese neueren Sequenzen, falls klinisch aufgrund des Krankheitszustandes möglich, in prospektiven Studien wegen ihrer höheren Genauigkeit bei der Differenzierung von

Wasser- und Fettsignalen, verwendet werden. Dies wird hauptsächlich durch ihre hohe Robustheit gegenüber B0- und B1-Inhomogenitäten des Magnetfeldes bedingt (215).

7.3.4. Muskelgruppen

Die Verteilung der Muskelveränderungen zeigt bei LOPD ein spezifisches progressives Verteilungsmuster. Bestimmte Muskeln scheinen anfälliger für den Krankheitsprozess zu sein als andere. Sowohl der Musculus psoas als auch die paraspinale Muskulatur sind bereits in frühen Stadien der Erkrankung betroffen (167). Die Veränderungen der Muskulatur des Halteapparates haben für die Patienten eine große klinische Relevanz. Meist treten die ersten Symptome der Erkrankung zum Beispiel beim Treppensteigen oder Aufstehen auf. Basierend auf diesen Beobachtungen wurde in dieser Arbeit die paraspinale Muskulatur und der Musculus psoas bewertet. Diese Muskeln haben den Vorteil einer exakten Lokalisationsmöglichkeit durch die anatomische Nähe zur Wirbelsäule und somit zu einer konstanten und gut zu identifizierenden Höhenangabe. Dies ermöglicht in Hinblick auf Folgeuntersuchungen die Messung von Schichten in gleicher Ebene und einen exakten Vergleich der Ergebnisse. Hierdurch werden Variationen der Messergebnisse aufgrund von intramuskulären Unterschieden verhindert und eine bessere Inter-Beobachter Korrelation ermöglicht.

Die radiologische Auswertung beider Muskelgruppen zeigte eine gute Korrelation zwischen beiden Untersuchern. Für FF_{man} ergab sich eine höhere Übereinstimmung zwischen den Beobachtern für die paraspinale Muskulatur. Bei FF_{aut} zeigte sich keine eindeutige Tendenz.

Die Ergebnisse beider Muskelgruppen korrelierten für beide Untersuchungsmethoden gut mit den klinischen Werten der Kraftgradmessung (MRC).

Die paraspinale Muskulatur zeigte für die initiale Untersuchung deutliche höhere absolute FF_{aut} -Werte (Tabelle 16) und scheint somit stärker von der Erkrankung betroffen zu sein. Im Rahmen experimenteller Untersuchungen zum Pathomechanismus der verschiedenen Muskelfasern bei Morbus Pompe ergab sich im Tiermodell in Typ I Muskelfasern eine deutlich stärkere Glykogenanreicherung im

Vergleich zu Typ II Muskelfasern. Dementsprechend scheint die paraspinale Muskulatur, welche im Vergleich zum Musculus psoas zu einem höheren Prozentsatz aus Typ I Muskelfasern besteht, unter anderem aufgrund der Muskelfaserverteilung stärker beeinflusst zu sein (78, 198, 200).

In der ersten Folgeuntersuchung unter ERT, auf die weiter unten detaillierter eingegangen wird, ergab sich durchschnittlich kein Unterschied der Zunahme der FF_{aut} zwischen beiden Muskelgruppen. Im Rahmen der zweiten Folgeuntersuchung beobachteten wir hingegen durchschnittlich einen Rückgang der FF_{aut} für die paraspinale Muskulatur und eine weitere Zunahme der Degeneration des Musculus psoas (Tabelle 15).

7.4. Klinische Daten

Sowohl die Mercuri Scores als auch die FF_{man} - und FF_{aut} -Werte korrelierten in unserer Studie außerordentlich gut mit den MRC Scores der Muskelkraft. Es konnte kein Unterschied der Korrelationen für MRC zwischen FF_{man} oder FF_{aut} gefunden werden (Tabelle 14). Dies stimmt mit den Ergebnissen der jüngsten Ganzkörper-MRT-Studien überein, in denen die MRT-Parameter empfindlicher bei der Erkennung früher und klinisch stummer Veränderungen in der Muskulatur waren (212, 216).

Signifikante Korrelationen zwischen den Mercuri Scores und dem klinischen Grad der Einschränkungen wurden ebenfalls in der Literatur beschrieben (124).

In unserer Studie waren die Plasmakonzentrationen der Creatinkinase bei Patienten mit fortgeschrittener Erkrankung (Mercuri Score 4) niedrig, aber vergleichsweise hoch bei Patienten mit normalen oder leichten Muskelveränderungen (Mercuri Scores 1 - 3) (Tabelle 8, 9 und 10). Dieses Muster bestätigt, dass MRT-Daten bei der Erkennung früher Veränderungen der Muskulatur vorteilhaft sind (217) und mit der klinischen Präsentation der Patienten korrelieren.

Bei den meisten der bewerteten klinischen Tests waren die Korrelationskoeffizienten mit $FF_{man/aut}$ im Vergleich zu den Korrelationskoeffizienten mit den Mercuri Scores etwas höher (Tabelle 8, 9 und 10).

Es zeigten sich jedoch, abgesehen von den MRC-Werten, nur mäßig gute Korrelationen zwischen dem Mercuri Score oder FF_{man} und FF_{aut} und den Ergebnissen der klinischen Tests.

Diese Feststellungen deuten darauf hin, dass sich ausschließlich durch klinische Daten nur schlecht auf den Verfettungsgrad und den Zustand der Muskulatur schließen lässt. Obwohl es sich um objektive klinische Untersuchungen handelt, hängen die Ergebnisse neben der muskulären Funktion von vielen weiteren inneren und äußeren Begleitumständen ab und können eine hohe Leistungsvariabilität aufweisen (203). So sind zum Beispiel Alter, BMI, Tagesform, Motivation, Müdigkeit bzw. Erschöpfung, Ventilation und Beatmung, Ernährungszustand, Trainingszustand und bereits erbrachte körperliche Leistung am Tag der Untersuchung entscheidende Faktoren für die Leistungen in der jeweiligen Untersuchung. Der Untersuchungstag ist grundsätzlich für die Patienten sehr anstrengend und mit vielen unterschiedlichen Tests verbunden. Mittels MRT lässt sich eine objektivere und genauere Aussage über den aktuellen Zustand der Muskulatur in kurzer Untersuchungszeit und unabhängig von der momentanen körperlichen Leistungsfähigkeit treffen.

7.5. Vergleich der Methoden

Um die Frage zu beantworten, mit welcher der hier untersuchten Methoden (Mercuri Score versus FF_{man} versus FF_{aut}) sich der Progress der Muskelverfettung am besten untersuchen lässt, wurden mehrere Aspekte betrachtet. Zunächst lässt sich festhalten, dass die Korrelation der quantitativen Berechnungen ($FF_{\text{man/aut}}$) eine leicht höhere Korrelation mit den klinischen Daten aufwies als die semi-quantitative Bewertung (Mercuri Score) (Tabelle 8, 9 und 10). Darüber hinaus ist die semi-quantitative visuelle Bewertungstechnik nicht ausreichend genau, um geringe Unterschiede in der Muskelzusammensetzung zu erkennen. Dies kann dazu führen, dass die Veränderung der Muskulatur falsch beurteilt wird.

Das visuelle Bewertungssystem nach Mercuri teilt den Grad der Muskelverfettung in vier Kategorien ein. Innerhalb jeder einzelnen dieser Kategorien ergibt sich hieraus ein relativ großer Spielraum, ohne dass sich dies in einer Veränderung der Gradeinteilung widerspiegelt (10). Demensprechend können kleine Veränderungen im Rahmen

regelmäßiger Folgeuntersuchungen unerkannt bleiben und dieses Bewertungsverfahren so in einigen Fällen die Progredienz der Muskelveränderungen nicht angemessen einschätzen (172). Der Vorteil einer Bestimmung des Fettgehaltes der Muskulatur durch die in dieser Arbeit evaluierten quantitativen Methoden ist die wesentlich genauere Ermittlung des Verfettungsgrades eines Muskels. Dies ermöglicht eine detailliertere Evaluation, um auch geringe Veränderungen im Verlauf wahrnehmen zu können, selbst bei langsam voranschreitenden Erkrankungen wie dem Morbus Pompe. Mit Hilfe einer quantitativen Auswertung lässt sich der Schweregrad der Erkrankung wesentlich genauer einschätzen und pathologische Veränderungen im Laufe der Zeit kontrollieren. Hierdurch wird ermöglicht, die Reaktion der Muskulatur auf die ERT wesentlich genauer zu überwachen.

Beim Vergleich der beiden quantitativen Verfahren ($FF_{\text{aut}}/FF_{\text{man}}$) ließ sich eine höhere Übereinstimmung der Beobachter für FF_{aut} im Verhältnis zu FF_{man} feststellen. Dies deutet auf eine höhere Reliabilität der FF_{aut} -Methodik hin. Des Weiteren beruht die Bestimmung von FF_{man} auf dem Verhältnis der Signalintensitäten von Muskel zu Fett. Dieses unterscheidet sich zwischen der T1- und T2-Wichtung stark. Zusätzlich variieren die Signalintensitäten aufgrund der beschriebenen Feldinhomogenitäten und führen bei der histographischen FF_{man} -Bestimmung zu größeren Differenzen zwischen den Untersuchern. Die schwellenwertbasierte Berechnung von FF_{aut} ist deutlich weniger anfällig für diese Schwankungen und damit besser zur Quantifizierung fettig-degenerativer Prozesse in der Muskulatur von Patienten mit LOPD geeignet.

7.6. Enzyersatztherapie

Die wichtigste klinische Anwendung unserer Methode ist die Beurteilung der Langzeitbeobachtung von Patienten mit LOPD unter ERT.

Aufgrund der Erkenntnisse, die sich aus den vorangegangenen Analysen ergaben, erfolgte die Auswertung der MRT-Nachuntersuchungen mit Hilfe der quantitativen teilautomatisierten Methode (FF_{aut}).

Wir konnten im Rahmen der Verlaufskontrollen eine signifikante Abnahme der Creatinkinase nach ERT-Einleitung feststellen. Klinisch zeigte sich bei der ersten

Nachuntersuchung, nach einem Median von 39 Monaten, ein Leistungsabfall beim Sechs-Minuten-Gehtest und beim Vier-Stufen-Steigtest. Diese Tests erreichten zwischen der ersten und zweiten Nachuntersuchung nach einem Median von 63 Monaten ein Plateau ohne weitere Verschlechterung der Resultate. Interessanterweise ließ sich ein vergleichbarer Trend für die aus der MRT abgeleiteten FF_{aut} -Werte des Psoas, nicht aber für die paraspinalen Muskeln, feststellen. Dies deutet darauf hin, dass insbesondere der Musculus psoas (zusätzlich zu den Extremitätenmuskeln) bei der Beurteilung des Schweregrades der Erkrankung in prospektiven Studien berücksichtigt werden sollte.

Eine Meta-Analyse hat gezeigt, dass die Leistung beim Sechs-Minuten-Gehtest in der Regel nach Beginn der ERT ansteigt und danach stabil bleibt (5). Allerdings sind die Nachbeobachtungszeiten in den meisten eingeschlossenen Studien kurz (zwischen 3 und 75 Monaten). Nur eine Studie untersuchte Patienten über mehr als drei Jahre nach (5, 218). Die Ergebnisse der klinischen Untersuchungen können sich, wie oben bereits erwähnt, aufgrund vieler Umstände sehr variabel verhalten. Daher könnten andere Parameter, wie zum Beispiel die aus der MRT abgeleiteten Ergebnisse, die Objektivität bei der Beurteilung des Ansprechens auf die Behandlung erhöhen. Darüber hinaus schnitten die Patienten in unserer Studie im Vergleich zu anderen Studien (4, 113, 143, 219) beim Sechs-Minuten-Gehtest zu Studienbeginn deutlich besser ab. Die mittlere Gehstrecke betrug in unserer Studie 503 m gegenüber 341m (113), 332m (4), 265m (219) bzw. 246m (143), was auf einen milderen durchschnittlichen Schweregrad der Erkrankung in unserer Studie hinweist.

Dieser Unterschied könnte erklären, warum sich die Leistung trotz ERT-Verabreichung bis zur ersten Nachuntersuchung verschlechterte. Zusätzlich ist zu bedenken, dass eine Leistungssteigerung im Sechs-Minuten-Gehtest durch körperliche Aktivität unterstützt werden kann. In der Studie von Strothotte et al. (113) führten beispielsweise die Patienten mit den höchsten Verbesserungen regelmäßig Trainingsprogramme durch. Die Teilnahme an einem körperlichen Trainingsprogramm wurde allen in unsere Studie eingeschlossenen Patienten empfohlen. Da diese Programme jedoch nicht zentral organisiert waren, wurden keine Daten über deren Ergebnisse oder die Häufigkeit der Teilnahme ausgewertet.

Eine langsam voranschreitende fettige Muskeldegeneration auch unter ERT wurde ebenfalls von Carlier et al. (11) mittels Dixon-basierter Quantifizierung der FF nachgewiesen; Langzeitergebnisse liegen jedoch noch nicht vor.

Bei individueller Analyse stellte sich der Verlauf der Muskelverfettung unter ERT in unserer Studie sehr heterogen dar (Abbildung 16, 19 und 20). Für die paraspinale Muskulatur zeigte sich nach Einleitung der ERT bereits in der ersten Folgeuntersuchung für die meisten Patienten ein deutliches Ansprechen mit einer Abnahme der FF_{aut} -Werte. Im Rahmen der zweiten Folgeuntersuchung ließ sich bei den beobachteten Patienten eine Stabilisierung bzw. weitere Verbesserung der muskulären Verfettung feststellen. Für den Musculus psoas zeigte sich je nach Ausgangswert der FF_{aut} eine unterschiedliche Entwicklung. Bei allen Patienten kam es zunächst nach Einleitung der ERT zu einem weiteren Anstieg oder einer nur minimalen Verbesserung der Muskelverfettung. Es war jedoch die Tendenz erkennbar, dass sich bei Patienten mit einer geringeren Muskelverfettung bei Einleitung der ERT im Rahmen der zweiten Nachuntersuchung ein Rückgang des muskulären Fettanteils einstellte. Demgegenüber war bei Patienten mit bereits fortgeschrittener Muskelverfettung ein weiterer Anstieg der FF_{aut} zu verzeichnen. Der Cut-Off Wert für diese Tendenz lag in unserer Studie bei ungefähr 8% Fettanteil zu Beginn der ERT (Tabelle 16). Diese grundsätzliche Tendenz, dass ein früher Therapiebeginn zu einem besseren Ansprechen der Therapie führt, wurde auch in der Studie von Gruhn et al. beobachtet (12, 58).

Das in unserer Untersuchung beobachtete unterschiedliche Ansprechen des Musculus psoas und der paraspinalen Muskulatur auf die ERT ist vermutlich auf die unterschiedliche Zusammensetzung der Muskelfasertypen beider Muskelgruppen zurückzuführen. Die Typ I Muskelfasern, welche überwiegend in der paraspinalen Muskulatur vorhanden sind, zeigten auch im Tiermodell ein deutlich besseres Ansprechen auf die ERT als Typ II Muskelfasern (78). Bei einem noch geringen Prozentsatz an muskulärem Fett bei Einleitung der ERT scheint auch der Musculus psoas von der Therapie zu profitieren. Hingegen konnte für die paraspinale Muskulatur, unabhängig vom initialen Verfettungsgrad, ein positives Ansprechen auf die ERT gezeigt werden. Um diese Vermutung zu bestätigen, sind weitere Untersuchungen mit größeren Fallzahlen von Patienten notwendig.

Die Beobachtungen in dieser Arbeit könnten auf eine langfristige Wirksamkeit der ERT hinweisen. Bei dieser Schlussfolgerung ist jedoch Vorsicht geboten, da es sich um eine retrospektive Studie handelt und keine Placebo-kontrollierte oder nicht therapierte Kohorte analysiert wurde. Dennoch zeigte der Patient, der keine ERT erhielt, eine wesentlich schnellere fettige Muskeldegeneration im MRT (die FF_{aut} der paraspinalen Muskeln nahm um 19% nach drei Jahren Nachbeobachtung zu) als die 13 Patienten unter ERT (die mittlere FF_{aut} -Zunahme bei der ersten Nachbeobachtung betrug 3%; nur 2/13 Patienten zeigten eine Zunahme von mehr als 19%). Eine ähnliche Tendenz wurde durch die Anwendung des Mercuri Scores nicht signifikant dargestellt, da eine Veränderung dieses Scores einen erheblichen Anstieg der FF erfordert, dies ist selbst in schweren Fällen sehr ungewöhnlich. Dies bestätigt unsere Aussage, dass der Mercuri Score für die Überwachung subtiler muskeldegenerativer Veränderungen unzureichend geeignet ist. Ähnliche Ergebnisse zeigten sich auch kürzlich in einer Längsschnittstudie an Patienten mit LGMD2I (209).

8. Limitationen und zukünftige Forschung

Zu den Einschränkungen unserer Studie zählt das retrospektive Design, bei dem Untersuchungen an mehreren MR-Scannern mit unterschiedlichen Feldstärken analysiert wurden. Die Anzahl der Patienten, die mit einem 3T-Scanner untersucht wurden, war gering. Da die Feldinhomogenität bei 3T zunimmt und kein Korrekturfilter für Signalungleichmäßigkeiten verwendet wurde, sollte in zukünftigen Studien für 3T-Scanner eine weitere Validierung der Methode erfolgen. Die Hauptanwendung der Methode ist jedoch die Analyse älterer Bilddaten. Diese Untersuchungen wurden am häufigsten an 1,5T-Scannern durchgeführt.

Darüber hinaus konnte die vorgeschlagene Quantifizierungsmethode nicht mit Dixon-basierten oder anderen quantitativen Techniken verglichen werden, da es sich um eine retrospektive Auswertung handelte. Diese in jüngerer Zeit etablierten fettunterdrückenden Sequenzen können eine noch genauere Aussage über den Verfettungsgrad geben. Sie haben jedoch den Nachteil einer deutlich längeren Akquisitionszeit und ermöglichen keinen Vergleich mit standardmäßigen Voraufnahmen. Viele Patienten können aufgrund der langen Untersuchungsdauer solcher Sequenzen nicht untersucht werden. Dies betrifft vor allem Patienten mit Atemproblemen (167). Des Weiteren ist die Technik nicht ubiquitär verfügbar.

Eine weitere Limitation der in dieser Arbeit verwendeten Methodik ist die Definition eines Schwellenwertes für normales Muskelgewebe durch den Beobachter. Dies ist aufgrund des Beobachtereinflusses weniger objektiv als die Protonendichte- oder die Dixon-Bildgebung.

Daher könnten vollautomatisierte Ansätze, wie sie kürzlich vorgeschlagen wurden, die Objektivität in zukünftigen Studien erhöhen (220). Des Weiteren ist die binäre Trennung jedes Voxels, das entweder als Muskel oder als Fett gezählt wird, eine Schwäche der Methode zur Bestimmung FF_{aut} . Demgegenüber messen Wasser/Fett-(Dixon)-Bildgebungsverfahren den Grad der Fettinfiltration in jedem Voxel prozentual (11).

Eine weitere Einschränkung besteht darin, dass Korrelate mit klinischen Daten nur unter Verwendung von Bilddaten der Lumbalmuskeln bewertet wurden. Diese Muskeln

– obwohl in der Literatur weniger häufig untersucht – sind für Patienten mit LOPD von hoher klinischer Relevanz. Ihre Degeneration kann zu den initialen klinischen Symptomen führen (221).

Da sich die vorgeschlagenen Methoden auf jeden spezifischen Muskel anwenden lassen, könnte die Einbeziehung der Bildgebung des Oberschenkelmuskels in zukünftigen Studien von Nutzen sein. Zusätzlich könnten für eine detailliertere Analyse ganze Muskelvolumina durch die Auswertung mehrerer Ebenen abgedeckt werden, jedoch mit dem Nachteil längerer Auswertungszeiten.

Insgesamt zeigten jedoch sowohl die manuelle als auch die teilautomatisierte Quantifizierung der fettigen Muskeldegeneration eine hohe Übereinstimmung zwischen den Beobachtern, eine Korrelation mit klinischen Daten, eine einfache Anwendbarkeit und die Möglichkeit der retrospektiven Anwendung zur Abschätzung des Fortschreitens der Krankheit mit einer höheren Genauigkeit als das Scoring-System nach Mercuri. Dies spricht für den klinisch-wissenschaftlichen Einsatz dieser Methode zum Beispiel im Rahmen multizentrischer Projekte mit größeren Fallzahlen.

9. Zusammenfassung

Mit Einführung der ERT für Patienten mit Morbus Pompe ist eine neue Ära der Therapiemöglichkeit dieser letal verlaufenden Erkrankung eingeleitet worden. Während sich bei der sehr schnell progredienten, klassisch infantilen Verlaufsform die Wirkung der Therapie klinisch gut dokumentieren lässt, gestaltet sich die Evaluation des Therapieerfolges bei LOPD aufgrund des langsamen Progresses deutlich schwieriger. Die etablierte visuelle, semi-quantitative Methode zur Beurteilung der Muskelverfettung in MRT-Bildern nach Mercuri stellt sich als nicht ausreichend differenziert dar, um auch geringe Veränderungen der Muskulatur im Verlauf der Erkrankung erkennen zu können.

Ziel dieser Arbeit war es, die morphologischen Veränderungen der Muskulatur im Krankheitsverlauf der LOPD mittels quantitativer MRT-Auswertungsverfahren auf der Grundlage konventioneller T1- und T2-gewichteter Aufnahmen zu bewerten. Hierfür evaluierten wir anhand eines Kollektivs von 46 Patienten ein manuelles und ein teilautomatisiertes Verfahren zur Bestimmung des Fettanteils der Muskulatur und verglichen diese mit dem Mercuri Score. Der Vorteil der Bewertung von Muskelveränderungen mittels MRT ist die breite Verfügbarkeit dieser Untersuchungsmethode. Die Bestimmung der FF_{man} und FF_{aut} anhand von konventionellen Sequenzen mit kurzer Untersuchungszeit ermöglicht eine genaue und quantitative Beurteilung des Verfettungsgrades und zusätzlich den Vergleich mit älteren Untersuchungen. Auf Grundlage dieser Ergebnisse analysierten wir den Verlauf der Muskelverfettung unter ERT.

Unsere Untersuchungen zeigten eine hohe Zuverlässigkeit mit einer guten Übereinstimmung zwischen den Beobachtern für den Mercuri Score und die FF_{man} sowie eine sehr gute Übereinstimmung zwischen den Beobachtern für die FF_{aut} . Die teilautomatische Methode war der manuellen Signalintensitätsmessung somit in dieser Hinsicht überlegen. Die manuelle Bestimmung der Fettfraktion hat, insbesondere aufgrund der Beeinflussung der Signalintensität von Fett durch Feldinhomogenitäten, einen Nachteil gegenüber der teilautomatischen Methode.

Wir stellten keinen signifikanten Unterschied der Muskelverfettung zwischen den Ebenen L3 und L5 fest. Durch die Bestimmung eines Mittelwertes mehrerer Schichten

wird eine gesamtheitliche Bewertung der Muskulatur ermöglicht. Im Vergleich der T1- und T2-gewichteten MRT-Bilder zeigte sich eine ähnlich gute Zuverlässigkeit und Korrelation von FF_{man} und FF_{aut} mit den klinischen Daten. Daher können grundsätzlich beide Wichtungen zur Beurteilung der Muskelverfettung verwendet werden, sofern dieselbe Wichtung beibehalten wird. Zur Beurteilung der Veränderungen bei LOPD sind T1-gewichtete Bilder empfehlenswert, da in T2-gewichteten Aufnahmen der Fettanteil durch ebenfalls signalreiche Ödeme bzw. Glykogeneinlagerungen überschätzt werden kann.

Die Korrelation der MRC Scores der Muskelkraft mit dem mittels MRT bestimmten Verfettungsgrad der Muskulatur zeigte in unseren Untersuchungen für alle drei Auswertungsmethoden eine sehr gute Korrelation. Bei den meisten klinischen Untersuchungen ließ sich eine bessere Korrelation der $FF_{\text{man/aut}}$ im Vergleich zu den Mercuri Scores aufzeigen.

Abgesehen vom Kraftgrad der Muskulatur konnten wir jedoch nur mäßig gute Korrelationen der Muskelverfettung mit den Resultaten der klinischen Untersuchungen beobachten. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass sich ausschließlich durch eine klinische Untersuchung nur schlecht auf den Verfettungsgrad der Muskulatur schließen lässt. Dementsprechend sind situations- und patientenunabhängige Beurteilungsmethoden zur Objektivierung des Krankheitsverlaufes besonders wichtig. Bemerkenswerterweise war der Grad der Muskelverfettung im Rahmen der initialen MRT-Untersuchung für die paraspinale Muskulatur durchschnittlich höher als der des Musculus psoas. Eine mögliche Erklärung hierfür ist der deutlich höhere Anteil an Typ I Muskelfasern, welche im Tiermodell eine höhere Glykogenakkumulation aufweisen.

Das wichtigste Anwendungsfeld der untersuchten Bewertungsverfahren stellt die Verlaufskontrolle unter ERT dar. Im Rahmen der Folgeuntersuchungen ließ sich klinisch eine Abnahme der Creatinkinase- und Verbesserung der MRC-Werte beobachten. Die weiteren klinischen Tests zeigten hingegen eine Verschlechterung in der ersten bzw. ein gleichbleibendes Niveau in der zweiten Nachuntersuchung.

Der mittels FF_{aut} gemessene Verfettungsgrad zeigte bei den meisten Patienten bereits bei der ersten Folgeuntersuchung eine Verbesserung in der paraspinalen Muskulatur. Auch in der zweiten Folgeuntersuchung ließ sich eine weitere Verbesserung bzw.

Stabilisierung für fast alle Patienten beobachten. Für den Musculus psoas war das Ansprechen auf die ERT in unseren Untersuchungen hingegen abhängig vom initialen Verfettungsgrad. Nach einer anfänglichen Verschlechterung in der ersten Folgeuntersuchung bei fast allen Patienten konnten wir lediglich für Patienten mit niedrigen initialen FF_{aut} -Werten vor ERT-Initiierung eine Verbesserung feststellen.

Zur Verifikation dieser beobachteten Ergebnisse sind weitere Untersuchungen mit höheren Patientenzahlen und möglichst unterschiedlichem Krankheitsprogress bei Einleitung der ERT notwendig.

Zusammenfassend ergibt sich aus den Ergebnissen dieser Arbeit die Schlussfolgerung, dass die quantitative teilautomatische Auswertungsmethode zur Bestimmung der Fettfraktion FF_{aut} anhand von T1-gewichteten MRT-Bildern ein für Patienten mit LOPD geeignetes Verfahren darstellt.

10. Literaturverzeichnis

1. Lollert A, Stihl C, Hötter AM, Mengel E, König J, Laudemann K, et al. Quantification of intramuscular fat in patients with late-onset Pompe disease by conventional magnetic resonance imaging for the long-term follow-up of enzyme replacement therapy. *PloS one*. 2018;13(1):e0190784.
2. van der Ploeg AT, Reuser AJ. Pompe's disease. *Lancet (London, England)*. 2008;372(9646):1342-53.
3. Medical Research Council. Aids to the examination of the peripheral nervous system. London: Her Majesty's Stationary Office. 1976.
4. van der Ploeg AT, Clemens PR, Corzo D, Escolar DM, Florence J, Groeneveld GJ, et al. A randomized study of alglucosidase alfa in late-onset Pompe's disease. *The New England journal of medicine*. 2010;362(15):1396-406.
5. Schoser B, Stewart A, Kanters S, Hamed A, Jansen J, Chan K, et al. Survival and long-term outcomes in late-onset Pompe disease following alglucosidase alfa treatment: a systematic review and meta-analysis. *Journal of neurology*. 2017;264(4):621-30.
6. Kishnani PS, Steiner RD, Bali D, Berger K, Byrne BJ, Case LE, et al. Pompe disease diagnosis and management guideline. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*. 2006;8(5):267-88.
7. Wattjes MP, Kley RA, Fischer D. Neuromuscular imaging in inherited muscle diseases. *European radiology*. 2010;20(10):2447-60.
8. Ortolan P, Zanato R, Coran A, Beltrame V, Stramare R. Role of Radiologic Imaging in Genetic and Acquired Neuromuscular Disorders. *European journal of translational myology*. 2015;25(2):5014.
9. Mercuri E, Pichiecchio A, Counsell S, Allsop J, Cini C, Jungbluth H, et al. A short protocol for muscle MRI in children with muscular dystrophies. *European journal of paediatric neurology : EJPN : official journal of the European Paediatric Neurology Society*. 2002;6(6):305-7.
10. Mercuri E, Pichiecchio A, Allsop J, Messina S, Pane M, Muntoni F. Muscle MRI in inherited neuromuscular disorders: past, present, and future. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI*. 2007;25(2):433-40.
11. Carlier PG, Azzabou N, de Sousa PL, Hicks A, Boisserie JM, Amadon A, et al. Skeletal muscle quantitative nuclear magnetic resonance imaging follow-up of adult Pompe patients. *Journal of inherited metabolic disease*. 2015;38(3):565-72.
12. Gruhn KM, Heyer CM, Guttsches AK, Rehmann R, Nicolas V, Schmidt-Wilcke T, et al. Muscle imaging data in late-onset Pompe disease reveal a correlation between the pre-existing degree of lipomatous muscle alterations and the efficacy of long-term enzyme replacement therapy. *Molecular genetics and metabolism reports*. 2015;3:58-64.

13. Hirschhorn R RA. Glycogen storage disease type II: Acid alpha-glucosidase (acid maltase) deficiency. The metabolic and molecular bases of inherited disease. 2001: .
14. V. BMS. Morbus Pompe - Grundlage, Diagnose und Therapie: UNI-MED Verlag AG, D-28323 Bremen, International Medical Publischer (London, Boston); 2006.
15. Schoser BGH. Glykogenspeichererkrankung Typ 2 - Morbus Pompe. Akt Neurol. 2007;34(05):283-90.
16. 25.08.2017 [Available from: <https://www.mpompe.de/nachrichten/260-wie-viele-sind-wir-eigentlich>.
17. Ausems MG, Verbiest J, Hermans MP, Kroos MA, Beemer FA, Wokke JH, et al. Frequency of glycogen storage disease type II in The Netherlands: implications for diagnosis and genetic counselling. European journal of human genetics : EJHG. 1999;7(6):713-6.
18. Poorthuis BJ, Wevers RA, Kleijer WJ, Groener JE, de Jong JG, van Weely S, et al. The frequency of lysosomal storage diseases in The Netherlands. Human genetics. 1999;105(1-2):151-6.
19. Martiniuk F, Chen A, Mack A, Arvanitopoulos E, Chen Y, Rom W, et al. Carrier frequency for glycogen storage disease type II in New York and estimates of affected individuals born with the disease1998. 69-72 p.
20. Meikle PJ, Hopwood JJ, Clague AE, Carey WF. Prevalence of lysosomal storage disorders. Jama. 1999;281(3):249-54.
21. Mechtler TP, Stary S, Metz TF, De Jesus VR, Greber-Platzer S, Pollak A, et al. Neonatal screening for lysosomal storage disorders: feasibility and incidence from a nationwide study in Austria. Lancet (London, England). 2012;379(9813):335-41.
22. Hopkins PV, Campbell C, Klug T, Rogers S, Raburn-Miller J, Kiesling J. Lysosomal storage disorder screening implementation: findings from the first six months of full population pilot testing in Missouri. The Journal of pediatrics. 2015;166(1):172-7.
23. Londeboom GA. Dutch medical biography. A biographical dictionary of Dutch physicians and surgeons 1475-1975. Amsterdam: Rodopi; 1984.
24. Pompe JC. Over idiopathische hypertrophie van het hart. Ned Tijdschr Geneesk. 1932;76:304-11.
25. Loonen C. The variability of Pompe's disease : a clinical, biochemical and genetic study of glycogen storage disease type 2, or acid maltase deficiency [Ph.D. thesis]: Erasmus University Rotterdam; 1979.
26. Putschar W. Ueber angeborene Glykogenspeicherkrankheit des Herzens: Thesaurismosis glycogenica [von Gierke]. Beitr path Anat. 1932:Series 4/Volume 6/Page 369.

27. Bischoff G. Zum klinischen Bild der Glykogen-Speicherungskrankheit (Glykogenose). Zeitschrift für Kinderheilkunde. 1932;52(6):722-6.
28. Schönheimer R. Über eine eigenartige Störung des Kohlehydrat-Stoffwechsels. Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie 1929. p. 148.
29. Berthold HK. Schoenheimer, Rudolf: Deutsche Biographie; 2007 [Available from: <https://www.deutsche-biographie.de/pnd120662914.html>].
30. Krivit W, Polglase WJ, Gunn FD, Tyler FH. Studies in disorders of muscle. IX. Glycogen storage disease primarily affecting skeletal muscle and clinically resembling amyotonia congenita. Pediatrics. 1953;12(2):165-77.
31. Di Sant'Agnese PA, Andersen DH, Mason HH. Glycogen storage disease of the heart. II. Critical review of the literature. Pediatrics. 1950;6(4):607-24.
32. Cori GT. Glycogen structure and enzyme deficiencies in glycogen storage disease. Harvey lectures. 1952;48:145-71.
33. Rothenberg M. History of Science in United States: An Encyclopedia: Taylor & Francis; 2012.
34. De Duve C, Pressman BC, Gianetto R, Wattiaux R, Appelmans F. Tissue fractionation studies. 6. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat-liver tissue. The Biochemical journal. 1955;60(4):604-17.
35. Coutinho MF, Matos L, Alves S. From bedside to cell biology: a century of history on lysosomal dysfunction. Gene. 2015;555(1):50-8.
36. Hers HG. alpha-Glucosidase deficiency in generalized glycogen storage disease (Pompe's disease). The Biochemical journal. 1963;86:11-6.
37. Engel AG, Dale AJ. Autophagic glycogenosis of late onset with mitochondrial abnormalities: light and electron microscopic observations. Mayo Clinic proceedings. 1968;43(4):233-79.
38. Engel AG. Acid maltase deficiency in adults: studies in four cases of a syndrome which may mimic muscular dystrophy or other myopathies. Brain : a journal of neurology. 1970;93(3):599-616.
39. Hudgson P, Gardner-Medwin D, Worsfold M, Pennington RJ, Walton JN. Adult myopathy from glycogen storage disease due to acid maltase deficiency. Brain : a journal of neurology. 1968;91(3):435-62.
40. D'Ancona GG, Wurm J, Croce CM. Genetics of type II glycogenosis: Assignment of the human gene for acid α -glucosidase to chromosome 17. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1979;76(9):4526-9.
41. Pompe Center at Erasmus University (Rotterdam). The Pompe disease mutation database 2016 [Available from: <http://cluster15.erasmusmc.nl/klgn/pompe/mutations.html?lang=en>].

42. Niño MY, In 't Groen SLM, Bergsma AJ, van der Beek N, Kroos M, Hoogeveen-Westerveld M, et al. Extension of the Pompe mutation database by linking disease-associated variants to clinical severity. *Human mutation*. 2019;40(11):1954-67.
43. Hug G, Schubert WK. Lysosomes in type II glycogenosis. Changes during administration of extract from *Aspergillus niger*. *The Journal of cell biology*. 1967;35(1):C1-6.
44. Reuser AJ, Van Den Hout H, Bijvoet AG, Kroos MA, Verbeet MP, Van Der Ploeg AT. Enzyme therapy for Pompe disease: from science to industrial enterprise. *European journal of pediatrics*. 2002;161 Suppl 1:S106-11.
45. Geel TM, McLaughlin PMJ, Leij L, Ruiters M, Niezen K. Pompe disease: Current state of treatment modalities and animal models. *Molecular genetics and metabolism*. 2008;92:299-307.
46. de Barsey T, Jacquemin P, Van Hoof F, Hers HG. Enzyme replacement in Pompe disease: an attempt with purified human acid alpha-glucosidase. *Birth defects original article series*. 1973;9(2):184-90.
47. Reuser AJ, Kroos MA, Ponne NJ, Wolterman RA, Loonen MC, Busch HF, et al. Uptake and stability of human and bovine acid alpha-glucosidase in cultured fibroblasts and skeletal muscle cells from glycogenosis type II patients. *Experimental cell research*. 1984;155(1):178-89.
48. Van der Ploeg AT, Kroos MA, Willemsen R, Brons NH, Reuser AJ. Intravenous administration of phosphorylated acid alpha-glucosidase leads to uptake of enzyme in heart and skeletal muscle of mice. *The Journal of clinical investigation*. 1991;87(2):513-8.
49. Fuller M, Van der Ploeg A, Reuser AJ, Anson DS, Hopwood JJ. Isolation and characterisation of a recombinant, precursor form of lysosomal acid alpha-glucosidase. *European journal of biochemistry*. 1995;234(3):903-9.
50. Bijvoet AG, Van Hirtum H, Kroos MA, Van de Kamp EH, Schoneveld O, Visser P, et al. Human acid alpha-glucosidase from rabbit milk has therapeutic effect in mice with glycogen storage disease type II. *Human molecular genetics*. 1999;8(12):2145-53.
51. Van den Hout H, Reuser AJ, Vulto AG, Loonen MC, Cromme-Dijkhuis A, Van der Ploeg AT. Recombinant human alpha-glucosidase from rabbit milk in Pompe patients. *Lancet (London, England)*. 2000;356(9227):397-8.
52. Van den Hout JM, Reuser AJ, de Klerk JB, Arts WF, Smeitink JA, Van der Ploeg AT. Enzyme therapy for pompe disease with recombinant human alpha-glucosidase from rabbit milk. *Journal of inherited metabolic disease*. 2001;24(2):266-74.
53. Klinge L, Straub V, Neudorf U, Schaper J, Bosbach T, Gorlinger K, et al. Safety and efficacy of recombinant acid alpha-glucosidase (rhGAA) in patients with classical infantile Pompe disease: results of a phase II clinical trial. *Neuromuscul Disord*. 2005;15(1):24-31.

54. Hunley TE, Corzo D, Dudek M, Kishnani P, Amalfitano A, Chen YT, et al. Nephrotic syndrome complicating alpha-glucosidase replacement therapy for Pompe disease. *Pediatrics*. 2004;114(4):e532-5.
55. Amalfitano A, Bengur AR, Morse RP, Majure JM, Case LE, Veerling DL, et al. Recombinant human acid alpha-glucosidase enzyme therapy for infantile glycogen storage disease type II: results of a phase I/II clinical trial. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*. 2001;3(2):132-8.
56. Kishnani PS, Corzo D, Nicolino M, Byrne B, Mandel H, Hwu WL, et al. Recombinant human acid [alpha]-glucosidase: major clinical benefits in infantile-onset Pompe disease. *Neurology*. 2007;68(2):99-109.
57. FDA. Approval Letter; Application Number 125141/0 28.04.2006: FDA; 2006 [Available from: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2006/125141s0000_Myozyme_Approv.pdf.
58. Winkel LP, Van den Hout JM, Kamphoven JH, Disseldorp JA, Remmerswaal M, Arts WF, et al. Enzyme replacement therapy in late-onset Pompe's disease: a three-year follow-up. *Annals of neurology*. 2004;55(4):495-502.
59. Byrne BJ, Kishnani PS, Case LE, Merlini L, Muller-Felber W, Prasad S, et al. Pompe disease: design, methodology, and early findings from the Pompe Registry. *Molecular genetics and metabolism*. 2011;103(1):1-11.
60. Kroos MA, Pomponio RJ, Hagemans ML, Keulemans JL, Phipps M, DeRiso M, et al. Broad spectrum of Pompe disease in patients with the same c.-32-13T->G haplotype. *Neurology*. 2007;68(2):110-5.
61. Berg JM, Held A, Stryer L, Lange C, Mahlke K, Maxam G, et al. *Stryer Biochemie*: Springer Berlin Heidelberg; 2012.
62. Raben N, Wong A, Ralston E, Myerowitz R. Autophagy and mitochondria in Pompe disease: nothing is so new as what has long been forgotten. *American journal of medical genetics Part C, Seminars in medical genetics*. 2012;160c(1):13-21.
63. Raben N, Plotz P, Byrne BJ. Acid alpha-glucosidase deficiency (glycogenosis type II, Pompe disease). *Current molecular medicine*. 2002;2(2):145-66.
64. Walkley SU. Pathogenic cascades in lysosomal disease-Why so complex? *Journal of inherited metabolic disease*. 2009;32(2):181-9.
65. Raben N, Hill V, Shea L, Takikita S, Baum R, Mizushima N, et al. Suppression of autophagy in skeletal muscle uncovers the accumulation of ubiquitinated proteins and their potential role in muscle damage in Pompe disease. *Human molecular genetics*. 2008;17(24):3897-908.
66. Ballabio A, Gieselmann V. Lysosomal disorders: from storage to cellular damage. *Biochimica et biophysica acta*. 2009;1793(4):684-96.

67. Hesselink RP, Van Kranenburg G, Wagenmakers AJ, Van der Vusse GJ, Drost MR. Age-related decline in muscle strength and power output in acid 1-4 alpha-glucosidase knockout mice. *Muscle & nerve*. 2005;31(3):374-81.
68. Hesselink RP, Gorselink M, Schaart G, Wagenmakers AJ, Kamphoven J, Reuser AJ, et al. Impaired performance of skeletal muscle in alpha-glucosidase knockout mice. *Muscle & nerve*. 2002;25(6):873-83.
69. Drost MR, Hesselink RP, Oomens CW, van der Vusse GJ. Effects of non-contractile inclusions on mechanical performance of skeletal muscle. *Journal of biomechanics*. 2005;38(5):1035-43.
70. Griffin JL. Infantile acid maltase deficiency. I. Muscle fiber destruction after lysosomal rupture. *Virchows Archiv B, Cell pathology including molecular pathology*. 1984;45(1):23-36.
71. Thurberg BL, Lynch Maloney C, Vaccaro C, Afonso K, Tsai AC, Bossen E, et al. Characterization of pre- and post-treatment pathology after enzyme replacement therapy for Pompe disease. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*. 2006;86(12):1208-20.
72. Cinnamon J, Slonim AE, Black KS, Gorey MT, Scuderi DM, Hyman RA. Evaluation of the lumbar spine in patients with glycogen storage disease: CT demonstration of patterns of paraspinal muscle atrophy. *AJNR American journal of neuroradiology*. 1991;12(6):1099-103.
73. Griffin JL. Infantile acid maltase deficiency. II. Muscle fiber hypertrophy and the ultrastructure of end-stage fibers. *Virchows Archiv B, Cell pathology including molecular pathology*. 1984;45(1):37-50.
74. Griffin JL. Infantile acid maltase deficiency. III. Ultrastructure of metachromatic material and glycogen in muscle fibers. *Virchows Archiv B, Cell pathology including molecular pathology*. 1984;45(1):51-61.
75. Reuser AJ, Drost MR. Lysosomal dysfunction, cellular pathology and clinical symptoms: basic principles. *Acta paediatrica (Oslo, Norway : 1992) Supplement*. 2006;95(451):77-82.
76. Cardiff RD. A histochemical and electron microscopic study of skeletal muscle in a case of Pompe's disease (glycogenosis II). *Pediatrics*. 1966;37(2):249-59.
77. Mizushima N, Levine B, Cuervo AM, Klionsky DJ. Autophagy fights disease through cellular self-digestion. *Nature*. 2008;451(7182):1069-75.
78. Fukuda T, Ewan L, Bauer M, Mattaliano RJ, Zaal K, Ralston E, et al. Dysfunction of endocytic and autophagic pathways in a lysosomal storage disease. *Annals of neurology*. 2006;59(4):700-8.
79. Fukuda T, Roberts A, Ahearn M, Zaal K, Ralston E, Plotz PH, et al. Autophagy and lysosomes in Pompe disease. *Autophagy*. 2006;2(4):318-20.
80. Hesselink RP, Schaart G, Wagenmakers AJ, Drost MR, van der Vusse GJ. Age-related morphological changes in skeletal muscle cells of acid alpha-glucosidase knockout mice. *Muscle & nerve*. 2006;33(4):505-13.

81. Nascimbeni AC, Fanin M, Tasca E, Angelini C. Molecular pathology and enzyme processing in various phenotypes of acid maltase deficiency. *Neurology*. 2008;70(8):617-26.
82. Falk DJ, Todd AG, Lee S, Soustek MS, ElMallah MK, Fuller DD, et al. Peripheral nerve and neuromuscular junction pathology in Pompe disease. *Human molecular genetics*. 2015;24(3):625-36.
83. Martiniuk F, Mehler M, Tzall S, Meredith G, Hirschhorn R. Sequence of the cDNA and 5'-flanking region for human acid alpha-glucosidase, detection of an intron in the 5' untranslated leader sequence, definition of 18-bp polymorphisms, and differences with previous cDNA and amino acid sequences. *DNA and cell biology*. 1990;9(2):85-94.
84. Kroos M, Hoogeveen-Westerveld M, van der Ploeg A, Reuser AJ. The genotype-phenotype correlation in Pompe disease. *American journal of medical genetics Part C, Seminars in medical genetics*. 2012;160c(1):59-68.
85. Herzog A, Hartung R, Reuser AJ, Hermanns P, Runz H, Karabul N, et al. A cross-sectional single-centre study on the spectrum of Pompe disease, German patients: molecular analysis of the GAA gene, manifestation and genotype-phenotype correlations. *Orphanet journal of rare diseases*. 2012;7:35.
86. Kuo WL, Hirschhorn R, Huie ML, Hirschhorn K. Localization and ordering of acid alpha-glucosidase (GAA) and thymidine kinase (TK1) by fluorescence in situ hybridization. *Human genetics*. 1996;97(3):404-6.
87. Hoefsloot LH, Hoogeveen-Westerveld M, Reuser AJ, Oostra BA. Characterization of the human lysosomal alpha-glucosidase gene. *The Biochemical journal*. 1990;272(2):493-7.
88. Hoefsloot LH, Hoogeveen-Westerveld M, Kroos MA, van Beeumen J, Reuser AJ, Oostra BA. Primary structure and processing of lysosomal alpha-glucosidase; homology with the intestinal sucrase-isomaltase complex. *The EMBO journal*. 1988;7(6):1697-704.
89. Raben N, Nichols RC, Martiniuk F, Plotz PH. A model of mRNA splicing in adult lysosomal storage disease (glycogenosis type II). *Human molecular genetics*. 1996;5(7):995-1000.
90. Hagemans ML, Winkel LP, Van Doorn PA, Hop WJ, Loonen MC, Reuser AJ, et al. Clinical manifestation and natural course of late-onset Pompe's disease in 54 Dutch patients. *Brain : a journal of neurology*. 2005;128(Pt 3):671-7.
91. Montalvo AL, Bembi B, Donnarumma M, Filocamo M, Parenti G, Rossi M, et al. Mutation profile of the GAA gene in 40 Italian patients with late onset glycogen storage disease type II. *Human mutation*. 2006;27(10):999-1006.
92. van den Hout HM, Hop W, van Diggelen OP, Smeitink JA, Smit GP, Poll-The BT, et al. The natural course of infantile Pompe's disease: 20 original cases compared with 133 cases from the literature. *Pediatrics*. 2003;112(2):332-40.

93. Reuser AJ, Kroos MA, Hermans MM, Bijvoet AG, Verbeet MP, Van Diggelen OP, et al. Glycogenosis type II (acid maltase deficiency). Muscle & nerve Supplement. 1995;3:S61-9.
94. Kishnani PS, Beckemeyer AA, Mendelsohn NJ. The new era of Pompe disease: advances in the detection, understanding of the phenotypic spectrum, pathophysiology, and management. American journal of medical genetics Part C, Seminars in medical genetics. 2012;160c(1):1-7.
95. Kamphoven JH, de Ruiter MM, Winkel LP, Van den Hout HM, Bijman J, De Zeeuw CI, et al. Hearing loss in infantile Pompe's disease and determination of underlying pathology in the knockout mouse. Neurobiology of disease. 2004;16(1):14-20.
96. van Capelle CI, Goedegebure A, Homans NC, Hoeve HL, Reuser AJ, van der Ploeg AT. Hearing loss in Pompe disease revisited: results from a study of 24 children. Journal of inherited metabolic disease. 2010;33(5):597-602.
97. Matsuoka T, Miwa Y, Tajika M, Sawada M, Fujimaki K, Soga T, et al. Divergent clinical outcomes of alpha-glucosidase enzyme replacement therapy in two siblings with infantile-onset Pompe disease treated in the symptomatic or pre-symptomatic state. Molecular genetics and metabolism reports. 2016;9:98-105.
98. Slonim AE, Bulone L, Ritz S, Goldberg T, Chen A, Martiniuk F. Identification of two subtypes of infantile acid maltase deficiency. The Journal of pediatrics. 2000;137(2):283-5.
99. Winkel LP, Hagemans ML, van Doorn PA, Loonen MC, Hop WJ, Reuser AJ, et al. The natural course of non-classic Pompe's disease; a review of 225 published cases. Journal of neurology. 2005;252(8):875-84.
100. Laforet P, Nicolino M, Eymard PB, Puech JP, Caillaud C, Poenaru L, et al. Juvenile and adult-onset acid maltase deficiency in France: genotype-phenotype correlation. Neurology. 2000;55(8):1122-8.
101. Muller-Felber W, Horvath R, Gempel K, Podskarbi T, Shin Y, Pongratz D, et al. Late onset Pompe disease: clinical and neurophysiological spectrum of 38 patients including long-term follow-up in 18 patients. Neuromuscul Disord. 2007;17(9-10):698-706.
102. Keunen RW, Lambregts PC, Op de Coul AA, Joosten EM. Respiratory failure as initial symptom of acid maltase deficiency. Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry. 1984;47(5):549-52.
103. Mellies U, Ragette R, Schwake C, Baethmann M, Voit T, Teschler H. Sleep-disordered breathing and respiratory failure in acid maltase deficiency. Neurology. 2001;57(7):1290-5.
104. Mellies U, Lofaso F. Pompe disease: a neuromuscular disease with respiratory muscle involvement. Respiratory medicine. 2009;103(4):477-84.
105. Schuller A, Wenninger S, Strigl-Pill N, Schoser B. Toward deconstructing the phenotype of late-onset Pompe disease. American journal of medical genetics Part C, Seminars in medical genetics. 2012;160c(1):80-8.

106. Makos MM, McComb RD, Hart MN, Bennett DR. Alpha-glucosidase deficiency and basilar artery aneurysm: report of a sibship. *Annals of neurology*. 1987;22(5):629-33.
107. Laforet P, Petiot P, Nicolino M, Orlikowski D, Caillaud C, Pellegrini N, et al. Dilative arteriopathy and basilar artery dolichoectasia complicating late-onset Pompe disease. *Neurology*. 2008;70(22):2063-6.
108. El-Gharbawy AH, Bhat G, Murillo JE, Thurberg BL, Kampmann C, Mengel KE, et al. Expanding the clinical spectrum of late-onset Pompe disease: dilated arteriopathy involving the thoracic aorta, a novel vascular phenotype uncovered. *Molecular genetics and metabolism*. 2011;103(4):362-6.
109. Matsuoka Y, Senda Y, Hirayama M, Matsui T, Takahashi A. Late-onset acid maltase deficiency associated with intracranial aneurysm. *Journal of neurology*. 1988;235(6):371-3.
110. Sacconi S, Bocquet JD, Chanalet S, Tanant V, Salvati L, Desnuelle C. Abnormalities of cerebral arteries are frequent in patients with late-onset Pompe disease. *Journal of neurology*. 2010;257(10):1730-3.
111. Kretzschmar HA, Wagner H, Hubner G, Danek A, Witt TN, Mehraein P. Aneurysms and vacuolar degeneration of cerebral arteries in late-onset acid maltase deficiency. *Journal of the neurological sciences*. 1990;98(2-3):169-83.
112. Anneser JM, Pongratz DE, Podskarbi T, Shin YS, Schoser BG. Mutations in the acid alpha-glucosidase gene (M. Pompe) in a patient with an unusual phenotype. *Neurology*. 2005;64(2):368-70.
113. Strothotte S, Strigl-Pill N, Grunert B, Kornblum C, Eger K, Wessig C, et al. Enzyme replacement therapy with alglucosidase alfa in 44 patients with late-onset glycogen storage disease type 2: 12-month results of an observational clinical trial. *Journal of neurology*. 2010;257(1):91-7.
114. Di Fiore MT, Manfredi R, Marri L, Zucchini A, Azzaroli L, Manfredi G. Elevation of transaminases as an early sign of late-onset glycogenosis type II. *European journal of pediatrics*. 1993;152(9):784.
115. Hoeksma M, Boon M, Niezen-Koning KE, van Overbeek-van Gils L, van Spronsen FJ. Isolated elevated serum transaminases leading to the diagnosis of asymptomatic Pompe disease. *European journal of pediatrics*. 2007;166(8):871-4.
116. Young SP, Piraud M, Goldstein JL, Zhang H, Rehder C, Laforet P, et al. Assessing disease severity in Pompe disease: the roles of a urinary glucose tetrasaccharide biomarker and imaging techniques. *American journal of medical genetics Part C, Seminars in medical genetics*. 2012;160c(1):50-8.
117. Young SP, Zhang H, Corzo D, Thurberg BL, Bali D, Kishnani PS, et al. Long-term monitoring of patients with infantile-onset Pompe disease on enzyme replacement therapy using a urinary glucose tetrasaccharide biomarker. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*. 2009;11(7):536-41.

118. Young SP, Stevens RD, An Y, Chen YT, Millington DS. Analysis of a glucose tetrasaccharide elevated in Pompe disease by stable isotope dilution-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Analytical biochemistry*. 2003;316(2):175-80.
119. van der Beek NA, van Capelle CI, van der Velden-van Etten KI, Hop WC, van den Berg B, Reuser AJ, et al. Rate of progression and predictive factors for pulmonary outcome in children and adults with Pompe disease. *Molecular genetics and metabolism*. 2011;104(1-2):129-36.
120. Winchester B, Bali D, Bodamer OA, Caillaud C, Christensen E, Cooper A, et al. Methods for a prompt and reliable laboratory diagnosis of Pompe disease: report from an international consensus meeting. *Molecular genetics and metabolism*. 2008;93(3):275-81.
121. Ing RJ, Cook DR, Bengur RA, Williams EA, Eck J, Dear Gde L, et al. Anaesthetic management of infants with glycogen storage disease type II: a physiological approach. *Paediatric anaesthesia*. 2004;14(6):514-9.
122. Chamoles NA, Niizawa G, Blanco M, Gaggioli D, Casentini C. Glycogen storage disease type II: enzymatic screening in dried blood spots on filter paper. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2004;347(1-2):97-102.
123. Bembi B, Cerini E, Danesino C, Donati MA, Gasperini S, Morandi L, et al. Diagnosis of glycogenosis type II. *Neurology*. 2008;71(23 Suppl 2):S4-11.
124. Alejaldre A, Diaz-Manera J, Ravaglia S, Tibaldi EC, D'Amore F, Moris G, et al. Trunk muscle involvement in late-onset Pompe disease: study of thirty patients. *Neuromuscul Disord*. 2012;22 Suppl 2:S148-54.
125. Carlier RY, Laforet P, Wary C, Mompoin D, Laloui K, Pellegrini N, et al. Whole-body muscle MRI in 20 patients suffering from late onset Pompe disease: Involvement patterns. *Neuromuscul Disord*. 2011;21(11):791-9.
126. Taglia A, Picillo E, D'Ambrosio P, Cecio MR, Viggiano E, Politano L. Genetic counseling in Pompe disease. *Acta myologica : myopathies and cardiomyopathies : official journal of the Mediterranean Society of Myology*. 2011;30(3):179-81.
127. Kemper AR, Hwu WL, Lloyd-Puryear M, Kishnani PS. Newborn screening for Pompe disease: synthesis of the evidence and development of screening recommendations. *Pediatrics*. 2007;120(5):e1327-34.
128. Scott CR, Elliott S, Buroker N, Thomas LI, Keutzer J, Glass M, et al. Identification of infants at risk for developing Fabry, Pompe, or mucopolysaccharidosis-I from newborn blood spots by tandem mass spectrometry. *The Journal of pediatrics*. 2013;163(2):498-503.
129. Case LE, Bjartmar C, Morgan C, Casey R, Charrow J, Clancy JP, et al. Safety and efficacy of alternative alglucosidase alfa regimens in Pompe disease. *Neuromuscul Disord*. 2015;25(4):321-32.
130. van Gelder CM, Poelman E, Plug I, Hoogeveen-Westerveld M, van der Beek N, Reuser AJJ, et al. Effects of a higher dose of alglucosidase alfa on ventilator-

- free survival and motor outcome in classic infantile Pompe disease: an open-label single-center study. *Journal of inherited metabolic disease*. 2016;39(3):383-90.
131. Kishnani PS, Corzo D, Leslie ND, Gruskin D, Van der Ploeg A, Clancy JP, et al. Early treatment with alglucosidase alpha prolongs long-term survival of infants with Pompe disease. *Pediatric research*. 2009;66(3):329-35.
 132. Nicolino M, Byrne B, Wraith JE, Leslie N, Mandel H, Freyer DR, et al. Clinical outcomes after long-term treatment with alglucosidase alfa in infants and children with advanced Pompe disease. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*. 2009;11(3):210-9.
 133. Hamdan MA, Almalik MH, Mirghani HM. Early administration of enzyme replacement therapy for Pompe disease: short-term follow-up results. *Journal of inherited metabolic disease*. 2008;31 Suppl 2:S431-6.
 134. Yang CF, Yang CC, Liao HC, Huang LY, Chiang CC, Ho HC, et al. Very Early Treatment for Infantile-Onset Pompe Disease Contributes to Better Outcomes. *The Journal of pediatrics*. 2016;169:174-80.e1.
 135. Prater SN, Banugaria SG, DeArme y SM, Botha EG, Stege EM, Case LE, et al. The emerging phenotype of long-term survivors with infantile Pompe disease. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*. 2012;14(9):800-10.
 136. label Maap.
 137. Case LE, Koeberl DD, Young SP, Bali D, DeArme y SM, Mackey J, et al. Improvement with ongoing Enzyme Replacement Therapy in advanced late-onset Pompe disease: a case study. *Molecular genetics and metabolism*. 2008;95(4):233-5.
 138. Ravaglia S, Danesino C, Pichiecchio A, Repetto A, Poloni GU, Rossi M, et al. Enzyme replacement therapy in severe adult-onset glycogen storage disease type II. *Advances in therapy*. 2008;25(8):820-9.
 139. Merk T, Wibmer T, Schumann C, Kruger S. Glycogen storage disease type II (Pompe disease)--influence of enzyme replacement therapy in adults. *European journal of neurology*. 2009;16(2):274-7.
 140. Forsha D, Li JS, Smith PB, van der Ploeg AT, Kishnani P, Pasquali SK. Cardiovascular abnormalities in late-onset Pompe disease and response to enzyme replacement therapy. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*. 2011;13(7):625-31.
 141. Harlaar L, Hogrel JY, Perniconi B, Kruijsaar ME, Rizopoulos D, Taouagh N, et al. Large variation in effects during 10 years of enzyme therapy in adults with Pompe disease. *Neurology*. 2019;93(19):e1756-e67.
 142. Nagura H, Hokugo J, Ueda K. Long-Term Observation of the Safety and Effectiveness of Enzyme Replacement Therapy in Japanese Patients with Pompe Disease: Results From the Post-marketing Surveillance. *Neurology and therapy*. 2019;8(2):397-409.

143. Anderson LJ, Henley W, Wyatt KM, Nikolaou V, Waldek S, Hughes DA, et al. Effectiveness of enzyme replacement therapy in adults with late-onset Pompe disease: results from the NCS-LSD cohort study. *Journal of inherited metabolic disease*. 2014;37(6):945-52.
144. Angelini C, Semplicini C, Ravaglia S, Bembi B, Servidei S, Pegoraro E, et al. Observational clinical study in juvenile-adult glycogenosis type 2 patients undergoing enzyme replacement therapy for up to 4 years. *Journal of neurology*. 2012;259(5):952-8.
145. Gungor D, Kruijshaar ME, Plug I, D'Agostino RB, Hagemans ML, van Doorn PA, et al. Impact of enzyme replacement therapy on survival in adults with Pompe disease: results from a prospective international observational study. *Orphanet journal of rare diseases*. 2013;8:49.
146. Kuperus E, Kruijshaar ME, Wens SCA, de Vries JM, Favejee MM, van der Meijden JC, et al. Long-term benefit of enzyme replacement therapy in Pompe disease: A 5-year prospective study. *Neurology*. 2017;89(23):2365-73.
147. van der Meijden JC, Gungor D, Kruijshaar ME, Muir AD, Broekgaarden HA, van der Ploeg AT. Ten years of the international Pompe survey: patient reported outcomes as a reliable tool for studying treated and untreated children and adults with non-classic Pompe disease. *Journal of inherited metabolic disease*. 2015;38(3):495-503.
148. Kishnani PS, Goldenberg PC, DeArme SL, Heller J, Benjamin D, Young S, et al. Cross-reactive immunologic material status affects treatment outcomes in Pompe disease infants. *Molecular genetics and metabolism*. 2010;99(1):26-33.
149. van Gelder CM, Hoogeveen-Westerveld M, Kroos MA, Plug I, van der Ploeg AT, Reuser AJ. Enzyme therapy and immune response in relation to CRIM status: the Dutch experience in classic infantile Pompe disease. *Journal of inherited metabolic disease*. 2015;38(2):305-14.
150. Banugaria SG, Prater SN, Ng YK, Kobori JA, Finkel RS, Ladda RL, et al. The impact of antibodies on clinical outcomes in diseases treated with therapeutic protein: lessons learned from infantile Pompe disease. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*. 2011;13(8):729-36.
151. Nabatame S, Taniike M, Sakai N, Kato-Nishimura K, Mohri I, Kagitani-Shimono K, et al. Sleep disordered breathing in childhood-onset acid maltase deficiency. *Brain & development*. 2009;31(3):234-9.
152. Mellies U, Stehling F, Dohna-Schwake C, Ragette R, Teschler H, Voit T. Respiratory failure in Pompe disease: treatment with noninvasive ventilation. *Neurology*. 2005;64(8):1465-7.
153. Poenaru L. Approach to gene therapy of glycogenosis type II (Pompe disease). *Molecular genetics and metabolism*. 2000;70(3):163-9.
154. Todd AG, McElroy JA, Grange RW, Fuller DD, Walter GA, Byrne BJ, et al. Correcting Neuromuscular Deficits With Gene Therapy in Pompe Disease. *Annals of neurology*. 2015;78(2):222-34.

155. van Til NP, Stok M, Aerts Kaya FS, de Waard MC, Farahbakhshian E, Visser TP, et al. Lentiviral gene therapy of murine hematopoietic stem cells ameliorates the Pompe disease phenotype. *Blood*. 2010;115(26):5329-37.
156. Falk DJ, Soustek MS, Todd AG, Mah CS, Cloutier DA, Kelley JS, et al. Comparative impact of AAV and enzyme replacement therapy on respiratory and cardiac function in adult Pompe mice. *Molecular therapy Methods & clinical development*. 2015;2:15007.
157. Smith BK, Fuller DD, Martin AD, Lottenberg L, Islam S, Lawson LA, et al. Diaphragm Pacing as a Rehabilitative Tool for Patients With Pompe Disease Who Are Ventilator-Dependent: Case Series. *Physical therapy*. 2016;96(5):696-703.
158. Slonim AE, Bulone L, Goldberg T, Minikes J, Slonim E, Galanko J, et al. Modification of the natural history of adult-onset acid maltase deficiency by nutrition and exercise therapy. *Muscle & nerve*. 2007;35(1):70-7.
159. van der Ploeg AT, Barohn R, Carlson L, Charrow J, Clemens PR, Hopkin RJ, et al. Open-label extension study following the Late-Onset Treatment Study (LOTS) of alglucosidase alfa. *Molecular genetics and metabolism*. 2012;107(3):456-61.
160. Phoenix J, Betal D, Roberts N, Helliwell TR, Edwards RH. Objective quantification of muscle and fat in human dystrophic muscle by magnetic resonance image analysis. *Muscle & nerve*. 1996;19(3):302-10.
161. Arpan I, Forbes SC, Lott DJ, Senesac CR, Daniels MJ, Triplett WT, et al. T(2) mapping provides multiple approaches for the characterization of muscle involvement in neuromuscular diseases: a cross-sectional study of lower leg muscles in 5-15-year-old boys with Duchenne muscular dystrophy. *NMR in biomedicine*. 2013;26(3):320-8.
162. Ranson CA, Burnett AF, Kerslake R, Batt ME, O'Sullivan PB. An investigation into the use of MR imaging to determine the functional cross sectional area of lumbar paraspinal muscles. *European spine journal : official publication of the European Spine Society, the European Spinal Deformity Society, and the European Section of the Cervical Spine Research Society*. 2006;15(6):764-73.
163. Hides JA, Richardson CA, Jull GA. Magnetic resonance imaging and ultrasonography of the lumbar multifidus muscle. Comparison of two different modalities. *Spine*. 1995;20(1):54-8.
164. Herson D, Larde D, Ferry M, Brunet P, Fardeau M. [Diagnostic contribution of computer tomography in muscular pathology]. *Revue neurologique*. 1985;141(6-7):482-9.
165. Serratrice G, Salamon G, Jiddane M, Gastaut JL, Pellissier JF, Pouget J. [Results of muscular x-ray computed tomography in 145 cases of neuromuscular disease]. *Revue neurologique*. 1985;141(5):404-12.
166. de Jager AE, van der Vliet TM, van der Ree TC, Oosterink BJ, Loonen MC. Muscle computed tomography in adult-onset acid maltase deficiency. *Muscle & nerve*. 1998;21(3):398-400.

167. Pichiecchio A, Uggetti C, Ravaglia S, Egitto MG, Rossi M, Sandrini G, et al. Muscle MRI in adult-onset acid maltase deficiency. *Neuromuscul Disord*. 2004;14(1):51-5.
168. Lonn L, Starck G, Alpsten M, Ekholm S, Sjostrom L. Determination of tissue volumes. A comparison between CT and MR imaging. *Acta radiologica* (Stockholm, Sweden : 1987). 1999;40(3):314-21.
169. Scheffel H, Alkadhi H, Boss A, Merkle E. *Praxisbuch MRT Abdomen und Becken*: Springer Berlin Heidelberg; 2012.
170. Kahl-Scholz M, Vockelmann C. *Basiswissen Radiologie: Nuklearmedizin und Strahlentherapie*: Springer-Verlag; 2017.
171. Weishaupt D, Koechli VD, Marincek B. *Wie funktioniert MRI?: Eine Einführung in Physik und Funktionsweise der Magnetresonanzbildgebung; mit 9 Tabellen*: Springer Berlin Heidelberg; 2014.
172. Hyun SJ, Bae CW, Lee SH, Rhim SC. Fatty Degeneration of the Paraspinal Muscle in Patients With Degenerative Lumbar Kyphosis: A New Evaluation Method of Quantitative Digital Analysis Using MRI and CT Scan. *Clinical spine surgery*. 2016;29(10):441-7.
173. **Healthcare S.** MR-Glossar 2015 [Available from: https://static.healthcare.siemens.com/siemens_hwem-hwem_ssxa_websites-context-root/wcm/idc/groups/public/@global/@imaging/@mri/documents/download/mda1/odcz/~edisp/siemens_mri_mr-glossar_de-02841201.pdf.
174. Boonyarom O, Inui K. Atrophy and hypertrophy of skeletal muscles: structural and functional aspects. *Acta physiologica* (Oxford, England). 2006;188(2):77-89.
175. Hyun SJ, Kim YB, Kim YS, Park SW, Nam TK, Hong HJ, et al. Postoperative changes in paraspinal muscle volume: comparison between paramedian interfascial and midline approaches for lumbar fusion. *Journal of Korean medical science*. 2007;22(4):646-51.
176. Lee JC, Cha JG, Kim Y, Kim YI, Shin BJ. Quantitative analysis of back muscle degeneration in the patients with the degenerative lumbar flat back using a digital image analysis: comparison with the normal controls. *Spine*. 2008;33(3):318-25.
177. Danneels LA, Vanderstraeten GG, Cambier DC, Witvrouw EE, De Cuyper HJ. CT imaging of trunk muscles in chronic low back pain patients and healthy control subjects. *European spine journal : official publication of the European Spine Society, the European Spinal Deformity Society, and the European Section of the Cervical Spine Research Society*. 2000;9(4):266-72.
178. Parkkola R, Rytokoski U, Kormano M. Magnetic resonance imaging of the discs and trunk muscles in patients with chronic low back pain and healthy control subjects. *Spine*. 1993;18(7):830-6.

179. Fleckenstein JL CI, Reimers CD. Muscle imaging in health and disease. New York: Springer; 1996.
180. Lamminen AE. Magnetic resonance imaging of primary skeletal muscle diseases: patterns of distribution and severity of involvement. *The British journal of radiology*. 1990;63(756):946-50.
181. Liu GC, Jong YJ, Chiang CH, Jaw TS. Duchenne muscular dystrophy: MR grading system with functional correlation. *Radiology*. 1993;186(2):475-80.
182. Nagao H, Morimoto T, Sano N, Takahashi M, Nagai H, Tawa R, et al. [Magnetic resonance imaging of skeletal muscle in patients with Duchenne muscular dystrophy--serial axial and sagittal section studies]. *No to hattatsu = Brain and development*. 1991;23(1):39-43.
183. Fortin M, Battie MC. Quantitative paraspinal muscle measurements: inter-software reliability and agreement using OsiriX and ImageJ. *Physical therapy*. 2012;92(6):853-64.
184. Ploumis A, Michailidis N, Christodoulou P, Kalaitzoglou I, Gouvas G, Beris A. Ipsilateral atrophy of paraspinal and psoas muscle in unilateral back pain patients with monosegmental degenerative disc disease. *The British journal of radiology*. 2011;84(1004):709-13.
185. Hyun JK, Lee JY, Lee SJ, Jeon JY. Asymmetric atrophy of multifidus muscle in patients with unilateral lumbosacral radiculopathy. *Spine*. 2007;32(21):E598-602.
186. Kader DF, Wardlaw D, Smith FW. Correlation between the MRI changes in the lumbar multifidus muscles and leg pain. *Clinical radiology*. 2000;55(2):145-9.
187. Barra V, Boire JY. Segmentation of fat and muscle from MR images of the thigh by a possibilistic clustering algorithm. *Computer methods and programs in biomedicine*. 2002;68(3):185-93.
188. Harris G, Andreasen NC, Cizadlo T, Bailey JM, Bockholt HJ, Magnotta VA, et al. Improving tissue classification in MRI: a three-dimensional multispectral discriminant analysis method with automated training class selection. *Journal of computer assisted tomography*. 1999;23(1):144-54.
189. Hoad CL, Martel AL. Segmentation of MR images for computer-assisted surgery of the lumbar spine. *Physics in medicine and biology*. 2002;47(19):3503-17.
190. Martin PE, Mungiole M, Marzke MW, Longhill JM. The use of magnetic resonance imaging for measuring segment inertial properties. *Journal of biomechanics*. 1989;22(4):367-76.
191. Mitsiopoulos N, Baumgartner RN, Heymsfield SB, Lyons W, Gallagher D, Ross R. Cadaver validation of skeletal muscle measurement by magnetic resonance imaging and computerized tomography. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 1998;85(1):115-22.

192. Sebastian TB, Tek H, Crisco JJ, Kimia BB. Segmentation of carpal bones from CT images using skeletally coupled deformable models. *Medical image analysis*. 2003;7(1):21-45.
193. Hides JA, Belavy DL, Stanton W, Wilson SJ, Rittweger J, Felsenberg D, et al. Magnetic resonance imaging assessment of trunk muscles during prolonged bed rest. *Spine*. 2007;32(15):1687-92.
194. Fortin M, Lazary A, Varga PP, McCall I, Battie MC. Paraspinal muscle asymmetry and fat infiltration in patients with symptomatic disc herniation. *European spine journal : official publication of the European Spine Society, the European Spinal Deformity Society, and the European Section of the Cervical Spine Research Society*. 2016;25(5):1452-9.
195. Mhuiris AN, Volken T, Elliott JM, Hoggarth M, Samartzis D, Crawford RJ. Reliability of quantifying the spatial distribution of fatty infiltration in lumbar paravertebral muscles using a new segmentation method for T1-weighted MRI. *BMC musculoskeletal disorders*. 2016;17:234.
196. Niemeläinen R, Briand MM, Battié MC. Substantial asymmetry in paraspinal muscle cross-sectional area in healthy adults questions its value as a marker of low back pain and pathology. *Spine*. 2011;36(25):2152-7.
197. Mannion AF. Fibre type characteristics and function of the human paraspinal muscles: normal values and changes in association with low back pain. *Journal of electromyography and kinesiology : official journal of the International Society of Electrophysiological Kinesiology*. 1999;9(6):363-77.
198. Arbanas J, Klasan GS, Nikolic M, Jerkovic R, Miljanovic I, Malnar D. Fibre type composition of the human psoas major muscle with regard to the level of its origin. *Journal of anatomy*. 2009;215(6):636-41.
199. A. D. Ausgewählte Funktionell-Anatomische Aspekte. Muskuläre Profile der Wirbelsäule. Berlin, Heidelberg: Springer; 1997.
200. Mannion AF, Dumas GA, Cooper RG, Espinosa FJ, Faris MW, Stevenson JM. Muscle fibre size and type distribution in thoracic and lumbar regions of erector spinae in healthy subjects without low back pain: normal values and sex differences. *Journal of anatomy*. 1997;190 (Pt 4)(Pt 4):505-13.
201. Shen W, Punyanitya M, Wang Z, Gallagher D, St-Onge MP, Albu J, et al. Total body skeletal muscle and adipose tissue volumes: estimation from a single abdominal cross-sectional image. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 2004;97(6):2333-8.
202. Crawford RJ, Cornwall J, Abbott R, Elliott JM. Manually defining regions of interest when quantifying paravertebral muscles fatty infiltration from axial magnetic resonance imaging: a proposed method for the lumbar spine with anatomical cross-reference. *BMC musculoskeletal disorders*. 2017;18(1):25.
203. ATS statement: guidelines for the six-minute walk test. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2002;166(1):111-7.

204. Bennell K, Dobson F, Hinman R. Measures of physical performance assessments: Self-Paced Walk Test (SPWT), Stair Climb Test (SCT), Six-Minute Walk Test (6MWT), Chair Stand Test (CST), Timed Up & Go (TUG), Sock Test, Lift and Carry Test (LCT), and Car Task. *Arthritis care & research*. 2011;63 Suppl 11:S350-70.
205. Matthews WB. Aids to the examination of the peripheral nervous system. *Journal of the neurological sciences*.33(1):299.
206. Portney L WM. *Foundations Of Clinical Research*: Upper Saddle River, NY: Pearson Health Science; 2009.
207. Diedenhofen B, Musch J. cocor: a comprehensive solution for the statistical comparison of correlations. *PloS one*. 2015;10(3):e0121945.
208. Steiger JH. Tests for comparing elements of a correlation matrix. *Psychological Bulletin*. 1980;87(2):245-51.
209. Willis TA, Hollingsworth KG, Coombs A, Sveen ML, Andersen S, Stojkovic T, et al. Quantitative magnetic resonance imaging in limb-girdle muscular dystrophy 2I: a multinational cross-sectional study. *PloS one*. 2014;9(2):e90377.
210. Hernando D, Sharma SD, Aliyari Ghasabeh M, Alvis BD, Arora SS, Hamilton G, et al. Multisite, multivendor validation of the accuracy and reproducibility of proton-density fat-fraction quantification at 1.5T and 3T using a fat-water phantom. *Magnetic resonance in medicine*. 2017;77(4):1516-24.
211. Dlamini N, Jan W, Norwood F, Sheehan J, Spahr R, Al-Sarraj S, et al. Muscle MRI findings in siblings with juvenile-onset acid maltase deficiency (Pompe disease). *Neuromuscul Disord*. 2008;18(5):408-9.
212. Figueroa-Bonaparte S, Segovia S, Llauger J, Belmonte I, Pedrosa I, Alejaldre A, et al. Muscle MRI Findings in Childhood/Adult Onset Pompe Disease Correlate with Muscle Function. *PloS one*. 2016;11(10):e0163493.
213. Wurslin C, Springer F, Yang B, Schick F. Compensation of RF field and receiver coil induced inhomogeneity effects in abdominal MR images by a priori knowledge on the human adipose tissue distribution. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI*. 2011;34(3):716-26.
214. Azzabou N, Loureiro de Sousa P, Caldas E, Carlier PG. Validation of a generic approach to muscle water T2 determination at 3T in fat-infiltrated skeletal muscle. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI*. 2015;41(3):645-53.
215. Ma J. Breath-hold water and fat imaging using a dual-echo two-point Dixon technique with an efficient and robust phase-correction algorithm. *Magnetic resonance in medicine*. 2004;52(2):415-9.
216. Horvath JJ, Austin SL, Case LE, Greene KB, Jones HN, Soher BJ, et al. Correlation between quantitative whole-body muscle magnetic resonance imaging and clinical muscle weakness in Pompe disease. *Muscle & nerve*. 2015;51(5):722-30.

217. Kang CH, Shin MJ, Kim SM, Lee SH, Lee CS. MRI of paraspinal muscles in lumbar degenerative kyphosis patients and control patients with chronic low back pain. *Clinical radiology*. 2007;62(5):479-86.
218. Andreassen CS, Schlutter JM, Vissing J, Andersen H. Effect of enzyme replacement therapy on isokinetic strength for all major muscle groups in four patients with Pompe disease-a long-term follow-up. *Molecular genetics and metabolism*. 2014;112(1):40-3.
219. Bembi B, Pisa FE, Confalonieri M, Ciana G, Fiumara A, Parini R, et al. Long-term observational, non-randomized study of enzyme replacement therapy in late-onset glycogenosis type II. *Journal of inherited metabolic disease*. 2010;33(6):727-35.
220. Fortin M, Omidyeganeh M, Battie MC, Ahmad O, Rivaz H. Evaluation of an automated thresholding algorithm for the quantification of paraspinal muscle composition from MRI images. *Biomedical engineering online*. 2017;16(1):61.
221. Taisne N, Desnuelle C, Juntas Morales R, Ferrer Monasterio X, Sacconi S, Duval F, et al. Bent spine syndrome as the initial symptom of late-onset Pompe disease. *Muscle & nerve*. 2017;56(1):167-70.

11. Danksagung

12. Lebenslauf